



(12) **Oversettelse av
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 2489361 B1**

NORGE

(19) NO
(51) Int Cl. *A61P 11/00 (2006.01)*
A61K 38/01 (2006.01) *A61P 17/00 (2006.01)*
A61K 38/03 (2006.01) *A61P 25/00 (2006.01)*
A61K 38/04 (2006.01) *A61P 31/12 (2006.01)*
A61P 9/00 (2006.01) *A61P 37/00 (2006.01)*

Patentstyret

(21) Oversettelse publisert 2014.09.15

(80) Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet 2014.04.16

(86) Europeisk søknadsnr 12000663.0

(86) Europeisk innleveringsdag 2009.06.02

(87) Den europeiske søknadens Publiseringsdato 2012.08.22

(30) Prioritet 2008.05.30, WO, PCT/EP08/004341

(84) Utpekte stater AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO SE SI SK TR

(73) Innehaver Xigen Inflammation Ltd., Arch. Makariou III 195 Neocleous House, 3030 Limassol, CY-Kypros

(72) Oppfinner Bonny, Christophe, 37c, chemin du Trabandan, 1006 Lausanne, CH-Sveits

(74) Fullmektig Onsagers AS, Postboks 1813 Vika, 0123 OSLO, Norge

(54) **Benevnelse** **Anvendelse av cellepermeable peptidinhibitorer av JNK-signaltransduksjonsveien for behandling av ulike sykdommer.**

(56) **Anførte publikasjoner** EP-A- 1 364 949, WO-A-01/27268, WO-A-03/075917, WO-A-03/103698, WO-A-2005/097116 WO-A-2007/031098, WO-A-2008/028860 , US-A1- 2003 100 549, US-A1- 2004 082 509 US-A1- 2006 258 706, US-A1- 2006 270 646, US-A1- 2007 003 531 ZOUKHRI DRISS ET AL: "c-Jun NH2-terminal kinase mediates interleukin-1beta-induced inhibition of lacrimal gland secretion.", JOURNAL OF NEUROCHEMISTRY JAN 2006, vol. 96, no. 1, January 2006 (2006-01), pages 126-135, XP002515924, ISSN: 0022-3042 MILANO GIUSEPPINA ET AL: "A peptide inhibitor of c-Jun NH2-terminal kinase reduces myocardial ischemia-reperfusion injury and infarct size in vivo.", AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY APR 2007, vol. 292, no. 4, April 2007 (2007-04), pages H1828-H1835, XP002515925, ISSN: 0363-6135 HOLZBERG DAVID ET AL: "Disruption of the c-JUN-JNK complex by a cell-permeable peptide containing the c-JUN delta domain induces apoptosis and affects a distinct set of interleukin-1-induced inflammatory genes.", THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY 10 OCT 2003, vol. 278, no. 41, 10 October 2003 (2003-10-10), pages 40213-40223, XP002515926, ISSN: 0021-9258 JOHNSON ET AL: "The c-jun kinase/stress-activated pathway: Regulation, function and role in human disease", BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA. MOLECULAR CELL RESEARCH, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, vol. 1773, no. 8, 1 August 2007 (2007-08-01), pages 1341-1348, XP022181683, ISSN: 0167-4889

Foreliggende oppfinnelse refererer til anvendelsen av proteinkinaseinhibitorer og mer spesifikt anvendelsen av inhibitorer av proteinkinase c-jun-aminoterminal kinase, JNK-inhibitorsekvenser, kimære peptider, eller nukleinsyrer som koder for det samme i tillegg til farmasøytiske sammensetninger inneholdende de samme, for behandlingen av ulike sykdommer eller forstyrrelser sterkt relatert til JNK-signalisering, der disse sykdommene eller forstyrrelsene er valgt fra neuronale eller neurodegenerative sykdommer valgt fra dystoni, epilepsi, optisk nervesykdom, glaukom, øyeinfeksjon, axotomi, smerte, neuropatisk smerte og viral enkefalopati.

Den c-Jun-aminoterminal kinasen (JNK) er et medlem av den stressaktiverte gruppen av mitogenaktiverte protein (MAP)-kinasene. Disse kinasene har blitt implisert i kontrollen av cellevekst og differensiering, og mer generelt, som responsen for celler på miljøstimuli. JNK-signaltransduksjonsveien blir aktivert som respons på miljømessig stress og ved engasjeringen av flere klasser med celleoverflatereseptorer. Disse reseptorene kan inkludere cytokinreseptorer, serpentinreseptorer og reseptortyrosinkinaser. I pattedyrceller har JNK blitt implisert i biologiske prosesser slik som onkogen transformasjon og mediering av adaptive responser på miljømessig stress. JNK har også blitt assosiert med modulering av immunresponser, inkludert modning og differensiering av immunceller, i tillegg til effektivering av programmert celledød i celler identifisert for ødeleggelse av immunsystemet. Denne unike egenskapen gjør JNK-signalisering til et lovende mål for utvikling av farmakologisk intervensjon. Blant flere neurologiske forstyrrelser er JNK-signalisering spesielt implisert i iskemisk slag og Parkinsons sykdom, men også i andre sykdommer som nevnt nærmere nedenfor. Videre ble den mitogenaktiverte proteinkinase (MAPK) p38alfa vist negativt å regulere celleproliferasjonen ved antagonisering av JNK-c-Jun-veien. Den mitogenaktiverte proteinkinase (MAPK)p38alfa ser derfor ut til å være aktiv i undertrykking av normal proliferasjon og kreftcelleproliferasjon, og viser ytterligere involveringen av JNK i kreftsykdommer (se f.eks. Hui et al., Nature Genetics, vol 39, nr.6, juni 2007). Det ble også vist at c-Jun-N-terminal kinase (JNK) er involvert i neuropatisk smerte frembrakt ved spinalnerveligering (SNL) der SNL induserte en langsom og vedvarende aktivering av JNK, spesielt JNK1, der p38-mitogenaktivert proteinkinase-aktivering ble funnet i spinal-mikroglier etter SNL, som hadde falt til nær basalnivå ved 21 dager (Zhuang et al., The Journal of Neuroscience, 29.mars 2006, 26(13):3551-3560)).

Inhibering eller avbrytelse av JNK-signaliseringsveien, spesielt tilveiebringelsen av inhibitorer av JNK-signaliseringsveien, ser slik ut til å være en lovende tilnærming til bekjempelse av forstyrrelser som er sterkt relatert til JNK-signalisering. Imidlertid er det kun kjent noen få inhibitorer av JNK-signaliseringsveien så langt.

Inhibitorer av JNK-signaliseringsveien som allerede er kjent i den kjente teknikken inkluderer spesielt f.eks. oppstrømskinaseinhibitorer (f.eks. CEP-1347), små kjemiske inhibitorer av JNK (SP600125 og AS601245) som direkte påvirker kinaseaktivitet, f.eks. ved å konkurrere med ATP-bindingssetet på proteinkinase, og peptidinhibitorer av interaksjonen mellom JNK og dens substrater (D-JNKI og I-JIP) (se f.eks. Kuan et al., *Current Drug Targets – CNS & Neurological Disorders*, februar 2005, vol.4. nr. 1, s.63-67(5)).

Oppstrømskinaseinhibitoren CEP-1347 (KT7515) fremmer neuronal overlevelse ved doseringer som inhiberer aktivering av c-jun-aminoterminal kinaser (JNK'er) i primære embryonale kulturer og differensierte PC12-celler etter topisk fjerning og i mus behandlet med 1-metyl-4-fenyl-tetrahydropyridin. Videre kan CEP-1347 (KT7515) fremme langtidsoverlevelse av dyrkede hønse-embryonal dorsal-rotganglion, sympatetiske, ciliære og motorneuroner (se f.eks. Borasio et al., *Neuroreport*. 9(7): 1435-1439, 11.may 1998).

Den lille kjemiske JNK-inhibitoren SP600125 ble funnet å redusere nivåene av c-Jun-fosforylering for å beskytte dopaminerge neuroner fra apoptose, og for delvis å gjenopprette nivået av dopamin i MPTP-indusert PD i C57BL/6N-mus (Wang et al., *Neurosci. Res.* 2004, feb., 48(2), 195-202). Disse resultatene indikerer videre at JNK-veien er hovedmediatoren av de neurotoksiske effektene av MPTP in vivo og inhibering av JNK-aktivitet kan representere en ny og effektiv strategi for å behandle PD.

Et ytterligere eksempel på små kjemiske inhibitorer er den tidligere nevnte JNK-inhibitoren AS601245. AS601245 inhiberer JNK-signaliseringsveien og fremmer celleoverlevelse etter cerebral iskemi. In vivo tilveiebrakte AS601245 signifikant beskyttelse mot det forsinkede tapet av CA1-hippocampusneuroner i en gerbilmodell av transient global iskemi. Denne effekten er mediert ved JNK-inhibering og derfor ved c-Jun-uttrykking og fosforylering (se f.eks. Carboni et al., *Pharmacol. Exp. Ther.*, 2004 juli, 310(1):25-32. Epub 2004. 26.februar).

En tredje klasse av inhibitorer av JNK-signaliseringsveien representerer peptidinhibitorer av interaksjonen mellom JNK og dens substrater, som nevnt ovenfor. Som et utgangspunkt for konstruksjon av slike JNK-inhibitorpeptider kan en sekvenssammenstilling av naturlig forekommende JNK-proteiner bli benyttet. Typisk omfatter disse proteinene JNK-bindingsdomener (JBD'er) og forekommer i ulike insulinbindings (IB)-proteiner slik som IB1 eller IB2. Resultatene av en slik eksempelmessig sekvenssammenstilling mellom JNK-bindingsdomenene i IB1 (SEQ ID nr. 13), IB2 (SEQ ID nr. 14), c-Jun (SEQ ID nr. 15) og ATF2 (SEQ ID nr. 16) (se f.eks. figurene 1A-1C). Slike sammenstillinger avslører en delvis konservert sekvens på 8 aminosyrer (se figur 1A). E sammenligning av JBD'ene for IB1 og IB2 avslører ytterligere to blokker på syv og tre aminosyrer som er svært konservert mellom de to sekvensene.

Sekvenser konstruert på basis av en slik sammenstilling er f.eks. tilkjennegitt i WO 01/27268 eller i WO 2007/031280. WO 2007/031280 og WO 01/27268 tilkjennegir små cellepermeable fusjonspeptider, omfattende en såkalt TAT-cellepermeasjonssekvens avledet fra den grunnleggende trafikkeringssekvensen til HIV-TAT-proteinet og en minimum 20 aminosyrer lang inhibitorisk sekvens for IB1. Begge komponenter er kovalent koblet til hverandre. Eksempler på (og per i dag de eneste) inhibitorene av MAPK-JNK-signaliseringsveien tilkjennegitt i både WO 2007/031280 og WO 01/27268 er f.eks. L-JNKI1 (JNK-inhibitorpeptid sammensatt av L-aminosyrer) eller de proteaseresistente D-JNKI1-peptidene (JNK-inhibitorpeptid sammensatt av ikke-native D-aminosyrer). Disse JNK-inhibitor (JNKI)-peptidene er spesifikke for JNK (JNK1, JNK2 og JNK3). I motsetning til de småforbindelsesinhibitorene som er diskutert ovenfor inhiberer inhibitorsekvensene i WO 2007/031280 eller WO 01/27268 heller interaksjonen mellom JNK og dens substrat. Ved sin trafikkeringssekvens avledet fra TAT blir fusjonspeptidet effektivt transportert inn i cellene. På grunn av de nye egenskapene oppnådd ved trafikkeringskomponenten blir fusjonspeptidene aktivt transportert inn i celler, der de forblir effektive inntil proteolytisk degradering.

Likevel har peptider ifølge WO 2007/031280 eller WO 01/27268 kun vist seg å være aktive i et spesielt lite antall sykdommer, spesielt ikke-maligne eller immunologisk relaterte celleproliferative sykdommer.

Et mål med foreliggende oppfinnelse er slik å identifisere ytterligere sykdommer som kan bli bekjempet med JNK-inhibitorpeptider. Et annet mål med foreliggende oppfinnelse er å tilveiebringe (anvendelsen av) nye JNK-inhibitorpeptider og derivater derav for behandlingen av disse sykdommene og av sykdommer ikke ennå er kjent for eller som allerede er kjent for å være sterkt relatert til JNK-signalisering.

Målet blir nådd ved anvendelsen av en JNK-inhibitorsekvens, som definert her, for fremstillingen av en farmasøytisk sammensetning for behandling av ulike sykdommer som er sterkt relatert til JNK-signalisering hos et individ, der sykdommene eller forstyrrelsene som er sterkt relatert til JNK-signalisering hos et individ fortrinnsvis er valgt fra neuronale eller neurodegenerative sykdommer valgt fra dystoni, epilepsi, optisk nervesykdom, glaukom, øyeinfeksjon, axotomi, smerte, neuropatisk smerte og viral enkefalopati.

Ifølge oppfinnelsen er de neuronale eller neurodegenerative sykdommene valgt fra dystoni, epilepsi, optisk nervesykdom, glaukom, øyeinfeksjon, axotomi, smerte, neuropatisk smerte og viral enkefalopati.

Fordi JNK-inhibitorsekvenser som kjent på fagområdet kun viste anvendelighet for et begrenset antall sykdommer var det et overraskende resultat at JNK-inhibitorsekvenser som definert her kan bli benyttet og er passende for behandlingen av sykdommer eller forstyrrelser som er sterkt relatert til JNK-

signalisering som nevnt ovenfor. Dette var verken åpenbart eller antydning i den kjente teknikken, selv om JNK-inhibitorsekvenser generelt har vært kjent på fagområdet.

5 Ifølge en spesifikk utførelsesform binder typisk en JNK-inhibitorsekvens som benyttet her JNK og/eller inhiberer aktiveringen av minst én JNK-aktivert transkripsjonsfaktor, f.eks. c-Jun eller ATF2 (se henholdsvis f.eks. SEQ ID nr. 15 og 16) eller Elk1.

10 Ifølge en annen foretrukket utførelsesform er JNK-inhibitorsekvensene som benyttet her utelukkende sammensatt av D-aminosyrer som definert ovenfor. Mer foretrukket er disse JNK-inhibitorsekvensene som er sammensatt av D-aminosyrer ikke-native D-retro-invers-sekvenser av native JNK-inhibitorsekvenser. Uttrykket «retro-invers-sekvens» refererer til en isomer av en lineær peptidsekvens der retningen på sekvensen er reversert og kiraliteten til hver aminosyrerest er invertert (se f.eks. Jameson et al., Nature, 368, 744-746 (1994), Brady et al., Nature, 368, 15 692-693 (1994)). Fordelen med å kombinere D-enantiomerer og revers syntese er at posisjonene til karbonyl- og aminogrupeer på hver amidbinding blir byttet om, mens posisjonen til sidekjedegruppene på hvert alfa-karbon blir beholdt. Dersom ikke annet spesifikt er opplyst er det antatt at enhver gitte L-aminosyresekvens eller peptid som benyttet ifølge foreliggende oppfinnelse kan være konvertert til en D-retro-invers-sekvens eller peptid ved å syntetisere en revers av sekvensen eller 20 peptidet for den tilsvarende native L-aminosyresekvensen eller peptidet.

D-retro-invers-sekvensene som benyttet her og som definert ovenfor har en mengde nyttige egenskaper. F.eks. inntar D-retro-invers-sekvenser som benyttet her celler like effektivt som L-aminosyresekvenser som benyttet her, mens D-retro-invers-sekvenser som benyttet her er mer stabile enn de tilsvarende L-aminosyresekvensene. 25

JNK-inhibitorsekvensene som benyttet her består av minst én D-retro-invers-sekvens ifølge aminosyresekvensen NH₂-DQSRPVQPFLNLTTPRKPR-COOH (D-IB1(s)) (SEQ ID nr. 2).

30 Sammenlignbare JNK-inhibitorsekvenser som benyttet her og som tilkjennegitt ovenfor er vist i tabell 1 (SEQ ID nr. 1, 3, 4, 13-20 og 33-100). Tabellen viser navnet på JNK-inhibitorsekvensen som benyttet her, i tillegg til deres sekvensidentifiseringsnummer, deres lengde og aminosyresekvens. Videre viser tabell 1 sekvenser i tillegg til deres generiske formler, f.eks. for henholdsvis SEQ ID nr. 1, 2, 5, 6, 9 og 11 og SEQ ID nr. 3, 4, 7, 8, 10 og 12. Tabell 1 tilkjennegir 35 videre de kimære sekvensene SEQ ID nr. 9-12 og 23-32 (se nedenfor), L-IB1-sekvensene SEQ ID nr. 33 til 66 og D-IB1-sekvensene SEQ ID nr. 67-100.

(Overskrifter i kolonner i tabell 1: SEQUENCE/PEPTIDE NAME=sekvens-/peptidnavn, SEQ ID NO=SEQ ID nr., AA=aminosyrer, SEQUENCE=sekvens)

Tabell 1

SEQUENCE/ PEPTIDE NAME	SEQ ID NO	AA	SEQUENCE
L-IB1(s)	1	19	RPKRPTTLNLFQVPRSQD (NH ₂ -RPKRPTTLNLFQVPRSQD-COOH)
D-IB1(s)	2	19	DQSRPVQPFLNLTTPRKPR (NH ₂ -DQSRPVQPFLNLTTPRKPR-COOH)
L-IB generic) (s)	3	19	NH ₂ -X _n ^b -X _n ^a -RPTTLXLXXXXXXXXQD-X _n ^b -COOH
D-IB (generic) (s)	4	19	NH ₂ -X _n ^b -DQXXXXXXXXLXLTTPR-X _n ^a -X _n ^b -COOH
L-TAT	5	10	GRKKRRQRRR (NH ₂ -GRKKRRQRRR-COOH)
D-TAT	6	10	RRRQRRKKRG (NH ₂ -RRRQRRKKRG-COOH)
L-generic-TAT (s)	7	11	NH ₂ -X _n ^b -RKKRRQRRR-X _n ^b -COOH
D-generic-TAT (s)	8	11	NH ₂ -X _n ^b -RRRQRRKKR-X _n ^b -COOH
L-TAT-IB1(s)	9	31	GRKKRRQRRRPPRPKRPTTLNLFQVPRSQD (NH ₂ -GRKKRRQRRRPPRPKRPTTLNLFQVPRSQD-COOH)
L-TAT-IB (generic) (s)	10	29	NH ₂ -X _n ^b -RKKRRQRRR-X _n ^b -X _n ^a -RPTTLXLXXXXXXXXQD-X _n ^b -COOH
D-TAT-IB1(s)	11	31	DQSRPVQPFLNLTTPRKPRPPRRRQRRKKRG (NH ₂ -DQSRPVQPFLNLTTPRKPRPPRRRQRRKKRG-COOH)
D-TAT-IB (generic) (s)	12	29	NH ₂ -X _n ^b -DQXXXXXXXXLXLTTPR-X _n ^a -X _n ^b -RRRQRRKKR-X _n ^b -COOH
IB1-long	13	29	PGTGCGD TYRPKRPTTLNLFQVPRSQDT (NH ₂ -PGTGCGD TYRPKRPTTLNLFQVPRSQDT -COOH)
IB2-long	14	27	IPSPSVEEPHKHRPTTLRLTTLGAQDS (NH ₂ -IPSPSVEEPHKHRPTTLRLTTLGAQDS-COOH)
c-Jun	15	29	GAYGYSNPKILKQSM TLN LADPVGNL KPH (NH ₂ -GAYGYSNPKILKQSM TLN LADPVGNL KPH -COOH)
ATF2	16	29	TNEDHLAVHKHKHEM TLKFGPARND SVIV (NH ₂ -TNEDHLAVHKHKHEM TLKFGPARND SVIV -COOH)
L-IB1	17	23	DTYRPKRPTTLNLFQVPRSQDT (NH ₂ -DTYRPKRPTTLNLFQVPRSQDT -COOH)
D-IB1	18	23	TDQSRPVQPFLNLTTPRKPRYTD (NH ₂ -TDQSRPVQPFLNLTTPRKPRYTD -COOH)
L-IB (generic)	19	19	XRPTTLXLXXXXXXXXQDS/TX (NH ₂ -XRPTTLXLXXXXXXXXQDS/TX -COOH)
D-IB (generic)	20	19	XS/TDQXXXXXXXXLXLTTPRX (NH ₂ -XS/TDQXXXXXXXXLXLTTPRX -COOH)
L-generic-TAT	21	17	XXXXRKKRRQRRRXXXX (NH ₂ -XXXXRKKRRQRRRXXXX -COOH)
D-generic-TAT	22	17	XXXXRRRQRRKKRXXXX (NH ₂ -XXXXRRRQRRKKRXXXX -COOH)

SEQUENCE/ PEPTIDE NAME	SEQ ID NO	AA	SEQUENCE
L-TAT-IB1	23	35	GRKKRRQRRRPPDTPYRPKRPTTLNLFQVPRSQDT (NH ₂ -GRKKRRQRRRPPDTPYRPKRPTTLNLFQVPRSQDT-COOH)
L-TAT-IB (generic)	24	42	XXXXXXXXRKKRRQRRRXXXXXXXXRPTTLXLXXXXXXXXQDS/TX (NH ₂ -XXXXXXXXRKKRRQRRRXXXXXXXXRPTTLXLXXXXXXXXQDS/TX -COOH)
ID-TAT-IB1	25	35	TDQSRPVQPFNLTTTPRKPRYTDPPIRRRQRRKRG (NH ₂ -TDQSRPVQPFNLTTTPRKPRYTDPPIRRRQRRKRG-COOH)
D-TAT-IB (generic)	26	42	XT/SDQXXXXXXXXLXLTTPRXXXXXXXXRRRQRRKRXXXXXXX (NH ₂ -XT/SDQXXXXXXXXLXLTTPRXXXXXXXXRRRQRRKRXXXXXXX -COOH)
L-TAT-IB1(s1)	27	30	RKKRRQRRRPPRPKRPTTLNLFQVPRSQD (NH ₂ -RKKRRQRRRPPRPKRPTTLNLFQVPRSQD-COOH)
L-TAT-IB1(s2)	28	30	GRKKRRQRRRX _n ^c RPKRPTTLNLFQVPRSQD (NH ₂ -GRKKRRQRRRX _n ^c RPKRPTTLNLFQVPRSQD-COOH)
L-TAT-IB1(s3)	29	29	RKKRRQRRRX _n ^c RPKRPTTLNLFQVPRSQD (NH ₂ -RKKRRQRRRX _n ^c RPKRPTTLNLFQVPRSQD-COOH)
D-TAT-IB1(s1)	30	30	DQSRPVQPFNLTTTPRKPRPIRRRQRRKRR (NH ₂ -DQSRPVQPFNLTTTPRKPRPIRRRQRRKRR-COOH)
D-TAT-IB1(s2)	31	30	DQSRPVQPFNLTTTPRKPRX _n ^c RRRQRRKRG (NH ₂ -DQSRPVQPFNLTTTPRKPRX _n ^c RRRQRRKRG-COOH)
D-TAT-IB1(s3)	32	29	DQSRPVQPFNLTTTPRKPRX _n ^c RRRQRRKRR (NH ₂ -DQSRPVQPFNLTTTPRKPRX _n ^c RRRQRRKRR-COOH)
L-IB1(s1)	33	13	TLNLFQVPRSQD (NH ₂ -TLNLFQVPRSQD-COOH)
L-IB1(s2)	34	13	TTLNLFQVPRSQ (NH ₂ -TTLNLFQVPRSQ-COOH)
L-IB1(s3)	35	13	PTTLNLFQVPRS (NH ₂ -PTTLNLFQVPRS-COOH)
L-IB1(s4)	36	13	RPTTLNLFQVPR (NH ₂ -RPTTLNLFQVPR-COOH)
L-IB1(s5)	37	13	KRPTTLNLFQVP (NH ₂ -KRPTTLNLFQVP-COOH)
L-IB1(s6)	38	13	PKRPTTLNLFQV (NH ₂ -PKRPTTLNLFQV-COOH)
L-IB1(s7)	39	13	RPKRPTTLNLFQ (NH ₂ -RPKRPTTLNLFQ-COOH)
L-IB1(s8)	40	12	LNLFPVPRSQD (NH ₂ -LNLFPVPRSQD-COOH)
L-IB1(s9)	41	12	TLNLFQVPRSQ (NH ₂ -TLNLFQVPRSQ-COOH)
L-IB1(s10)	42	12	TTLNLFQVPRS (NH ₂ -TTLNLFQVPRS-COOH)

SEQUENCE/ PEPTIDE NAME	SEQ ID NO	AA	SEQUENCE
L-IB1(s11)	43	12	PTTLNLFQVPR (NH ₂ -PTTLNLFQVPR-COOH)
L-IB1(s12)	44	12	RPTTLNLFQVP (NH ₂ -RPTTLNLFQVP-COOH)
L-IB1(s13)	45	12	KRPTTLNLFQV (NH ₂ -KRPTTLNLFQV-COOH)
L-IB1(s14)	46	12	PKRPTTLNLFQ (NH ₂ -PKRPTTLNLFQ-COOH)
L-IB1(s15)	47	12	RPKRPTTLNLF (NH ₂ -RPKRPTTLNLF-COOH)
L-IB1(s16)	48	11	NLFQVPRSQD (NH ₂ -NLFQVPRSQD-COOH)
L-IB1(s17)	49	11	LNLFQVPRSQ (NH ₂ -LNLFQVPRSQ-COOH)
L-IB1(s18)	50	11	TLNLFQVPRS (NH ₂ -TLNLFQVPRS-COOH)
L-IB1(s19)	51	11	TTLNLFQVPR (NH ₂ -TTLNLFQVPR-COOH)
L-IB1(s20)	52	11	PTTLNLFQVP (NH ₂ -PTTLNLFQVP-COOH)
L-IB1(s21)	53	11	RPTTLNLFQV (NH ₂ -RPTTLNLFQV-COOH)
L-IB1(s22)	54	11	KRPTTLNLFQ (NH ₂ -KRPTTLNLFQ-COOH)
L-IB1(s23)	55	11	PKRPTTLNLF (NH ₂ -PKRPTTLNLF-COOH)
L-IB1(s24)	56	11	RPKRPTTLNLF (NH ₂ -RPKRPTTLNLF-COOH)
L-IB1(s25)	57	10	LFPQVPRSQD (NH ₂ -LFPQVPRSQD-COOH)
L-IB1(s26)	58	10	NLFQVPRSQ (NH ₂ -NLFQVPRSQ-COOH)
L-IB1(s27)	59	10	LNLFQVPRS (NH ₂ -LNLFQVPRS-COOH)
L-IB1(s28)	60	10	TLNLFQVPR (NH ₂ -TLNLFQVPR-COOH)
L-IB1(s29)	61	10	TTLNLFQVP (NH ₂ -TTLNLFQVP-COOH)
L-IB1(s30)	62	10	PTTLNLFQV (NH ₂ -PTTLNLFQV-COOH)
L-IB1(s31)	63	10	RPTTLNLFQ (NH ₂ -RPTTLNLFQ-COOH)

SEQUENCE/ PEPTIDE NAME	SEQ ID NO	AA	SEQUENCE
L-IB1(s32)	64	10	KRPTTLNLF (NH ₂ -KRPTTLNLF-COOH)
L-IB1(s33)	65	10	PKRPTTLNLF (NH ₂ -PKRPTTLNLF-COOH)
L-IB1(s34)	66	10	RPKRPTTLNL (NH ₂ -RPKRPTTLNL-COOH)
D-IB1(s1)	67	13	QPFLNLTTPRKPR (NH ₂ -QPFLNLTTPRKPR-COOH)
D-IB1(s2)	68	13	VQPFLNLTTPRK (NH ₂ -VQPFLNLTTPRK-COOH)
D-IB1(s3)	69	13	PVQPFLNLTTPRK (NH ₂ -PVQPFLNLTTPRK-COOH)
D-IB1(s4)	70	13	RPVQPFLNLTTPR (NH ₂ -RPVQPFLNLTTPR-COOH)
D-IB1(s5)	71	13	SRPVQPFLNLTTP (NH ₂ -SRPVQPFLNLTTP-COOH)
D-IB1(s6)	72	13	QSRPVQPFLNLT (NH ₂ -QSRPVQPFLNLT-COOH)
D-IB1(s7)	73	13	DQSRPVQPFLNLT (NH ₂ -DQSRPVQPFLNLT-COOH)
D-IB1(s8)	74	12	PFLNLTTPRKPR (NH ₂ -PFLNLTTPRKPR-COOH)
D-IB1(s9)	75	12	QPFLNLTTPRK (NH ₂ -QPFLNLTTPRK-COOH)
D-IB1(s10)	76	12	VQPFLNLTTPRK (NH ₂ -VQPFLNLTTPRK-COOH)
D-IB1(s11)	77	12	PVQPFLNLTTPR (NH ₂ -PVQPFLNLTTPR-COOH)
D-IB1(s12)	78	12	RPVQPFLNLTTP (NH ₂ -RPVQPFLNLTTP-COOH)
D-IB1(s13)	79	12	SRPVQPFLNLT (NH ₂ -SRPVQPFLNLT-COOH)
D-IB1(s14)	80	12	QSRPVQPFLNLT (NH ₂ -QSRPVQPFLNLT-COOH)
D-IB1(s15)	81	12	DQSRPVQPFLNL (NH ₂ -DQSRPVQPFLNL-COOH)
D-IB1(s16)	82	11	FLNLTTPRKPR (NH ₂ -FLNLTTPRKPR-COOH)
D-IB1(s17)	83	11	PFLNLTTPRK (NH ₂ -PFLNLTTPRK-COOH)
D-IB1(s18)	84	11	QPFLNLTTPRK (NH ₂ -QPFLNLTTPRK-COOH)

SEQUENCE/ PEPTIDE NAME	SEQ ID NO	AA	SEQUENCE
D-IB1(s19)	85	11	VQPFLNLTPR (NH ₂ -VQPFLNLTPR-COOH)
D-IB1(s20)	86	11	PVQPFLNLTP (NH ₂ -PVQPFLNLTP-COOH)
D-IB1(s21)	87	11	RPVQPFLNLTT (NH ₂ -RPVQPFLNLTT-COOH)
D-IB1(s22)	88	11	SRPVQPFLNLT (NH ₂ -SRPVQPFLNLT-COOH)
D-IB1(s23)	89	11	QSRPVQPFLNL (NH ₂ -QSRPVQPFLNL-COOH)
D-IB1(s24)	90	11	DQSRPVQPFLN (NH ₂ -DQSRPVQPFLN-COOH)
D-IB1(s25)	91	10	DQSRPVQPFL (NH ₂ -DQSRPVQPFL-COOH)
D-IB1(s26)	92	10	QSRPVQPFLN (NH ₂ -QSRPVQPFLN-COOH)
D-IB1(s27)	93	10	SRPVQPFLNL (NH ₂ -SRPVQPFLNL-COOH)
D-IB1(s28)	94	10	RPVQPFLNLT (NH ₂ -RPVQPFLNLT-COOH)
D-IB1(s29)	95	10	PVQPFLNLTT (NH ₂ -PVQPFLNLTT-COOH)
D-IB1(s30)	96	10	VQPFLNLTPR (NH ₂ -VQPFLNLTPR-COOH)
D-IB1(s31)	97	10	QPFLNLTPR (NH ₂ -QPFLNLTPR-COOH)
D-IB1(s32)	98	10	PFLNLTPRK (NH ₂ -PFLNLTPRK-COOH)
D-IB1(s33)	99	10	FLNLTPRK (NH ₂ -FLNLTPRK-COOH)
D-IB1(s34)	100	10	LNLTPRKPR (NH ₂ -LNLTPRKPR-COOH)

5 JNK-inhibitorsekvensene som benyttet her kan ytterligere bestå av et derivat av (ikke-native) aminosyresekvenser ifølge SEQ ID nr. 2, som definert ovenfor. I denne konteksten er et «derivat av en (ikke-nativ) aminosyresekvens ifølge SEQ ID nr. 2» fortrinnsvis en aminosyresekvens som er avledet fra SEQ ID nr. 2, der derivatet omfatter minst én modifisert D-aminosyre (som danner ikke-naturlig aminosyre(r)), fortrinnsvis 1 til 20, mer foretrukket 1 til 10, og enda mer foretrukket 10 1 til 5 modifiserte D-aminosyrer. Derivatet av varianter eller fragmenter faller også innenfor omfanget av foreliggende oppfinnelse.

«En modifisert aminosyre» kan i så henseende være enhver aminosyre som er endret, f.eks. ved ulik glykosylering i ulike organismer, ved fosforylering eller ved merking av spesifikke aminosyrer. Et slikt merke er da typisk valgt fra gruppen av merker som omfatter:

- 5 (i) radioaktive merker, dvs., radioaktiv fosforylering eller radioaktivt merke med svovel, hydrogen, karbon, nitrogen osv.,
- (ii) fargestoffer (f.eks. digoksygenin, osv.),
- (iii) fluorescerende grupper (f.eks. fluorescein, osv.),
- (iv) kjemoluminescensgrupper,
- 10 (v) grupper for immobilisering på en fast fase (f.eks. His-tag, biotin, strep-tag, flag-tag, antistoffer, antigen, osv.), og
- (vi) en kombinasjon av to eller flere av merkene nevnt under (i) til (v).

En JNK-inhibitorsekvens som benyttet ifølge foreliggende oppfinnelse og som definert ovenfor kan bli oppnådd eller produsert ved fremgangsmåter som er velkjente på fagområdet, f.eks. ved kjemisk syntese som diskutert nedenfor. F.eks. kan et peptid tilsvarende en del av en JNK-inhibitorsekvens som benyttet her inkludert en ønsket region av nevnte JNK-inhibitorsekvens, eller som medierer den ønskede aktiviteten in vitro eller in vivo, bli syntetisert ved anvendelse av en peptidsyntetiserer.

JNK-inhibitorsekvens som benyttet her og som definert ovenfor kan videre være modifisert ved en trafikkeringssekvens, for å tillate JNK-inhibitorsekvensen som benyttet her og definert ovenfor å bli transportert effektivt inn i celler. En slik modifisert JNK-inhibitorsekvens er fortrinnsvis tilveiebrakt og benyttet som kimære sekvenser.

Ifølge et andre aspekt tilveiebringer derfor foreliggende oppfinnelse anvendelsen av et kimært peptid bestående av et første domene og et andre domene for fremstillingen av en farmasøytisk sammensetning for behandling av sykdommer eller forstyrrelser som er sterkt relatert til JNK-signalisering som definert ovenfor i et individ, der det første domenet i det kimære peptidet omfatter en trafikkeringssekvens, mens det andre domenet i det kimære peptidet består av en JNK-inhibitorsekvens ifølge SEQ ID nr. 2 eller et derivat derav og der det første domenet er koblet til den C-terminale enden av det andre domenet.

Typisk har kimære peptider som benyttet ifølge foreliggende oppfinnelse en lengde på minst 25 aminosyrer, f.eks. 25 til 250 aminosyrer, mer foretrukket 25 til 200 aminosyrer, enda mer foretrukket 25 til 150 aminosyrer, 25 til 100 og mest foretrukket aminosyre 25 til 50 aminosyrer.

Som et første domene omfatter fortrinnsvis det kimære peptidet som benyttet her en trafikkeringssekvens som typisk er valgt fra enhver sekvens av aminosyrer som styrer et peptid (som det er til stede i) til en ønsket cellulær destinasjon. Slik styrer typisk trafikkeringssekvensen slik den benyttes her peptidet over
5 plasmamembranen, f.eks. fra utsiden av cellen gjennom plasmamembranen og inn i cytoplasma. Alternativt, eller i tillegg, så kan trafikkeringssekvensen styre peptidet til en ønsket lokalisering inne i cellen, f.eks. kjernen, ribosomet, det endoplasmatiske retikulum (ER), et lysosom, eller peroksisom, ved f.eks. å kombinere to komponenter (f.eks. komponent for cellepermeabilitet og en
10 komponent for nukleær lokalisering) eller ved at én enkelt komponent f.eks. har egenskaper for cellemembrantransport og målrettet, f.eks. intranukleær transport. Trafikkeringssekvensen kan i tillegg omfatte en annen komponent som er i stand til å binde en cytoplasmakomponent eller enhver annen komponent eller avdeling i cellen (f.eks. endoplasmatiske retikulum, mitokondrier, golgiapparatet, lysosomale
15 vesikler). Dermed kan f.eks. trafikkeringssekvensen på det første domenet og JNK-inhibitorsekvensen på det andre domenet være lokalisert i cytoplasma eller enhver annen avdeling i cellen. Dette gjør det mulig å bestemme lokalisering av det kimære peptidet i cellen ved opptak.

Fortrinnsvis har trafikkeringssekvensen (når den er inkludert i det første
20 domenet i det kimære peptidet som benyttet her) en lengde på 5 til 150 aminosyrer, mer foretrukket en lengde på 5 til 100 og mest foretrukket en lengde fra 5 til 50, 5 til 30 eller til og med 5 til 15 aminosyrer.

Mer foretrukket kan trafikkeringssekvensen (inneholdt i det første domenet i
25 det kimære peptidet som benyttet her) foreligge som en kontinuerlig aminosyresekvensstrekning i det første domenet. Alternativt kan trafikkeringssekvensen i det første domenet være splittet i to eller flere fragmenter, der alle disse fragmentene ligner hele trafikkeringssekvensen og kan være separert fra hverandre med 1 til 10, fortrinnsvis 1 til 5 aminosyrer, gitt at trafikkeringssekvensen opprettholder sine bærerens egenskaper som tilkjenne
30 gitt ovenfor. Disse aminosyrene som separerer fragmentene av trafikkeringssekvensen kan f.eks. bli valgt fra aminosyresekvenser som er forskjellige fra trafikkeringssekvensen. Alternativt kan det første domenet inneholde en trafikkeringssekvens sammensatt av mer enn én komponent, der hver komponent har sin egen funksjon for transporten av JNK-inhibitorsekvensen på det andre
35 domenet til f.eks. en spesifikk avdeling i cellen.

Trafikkeringssekvensen som definert ovenfor kan være sammensatt av L-aminosyrer, D-aminosyrer, eller en kombinasjon av begge. Fortrinnsvis kan trafikkeringssekvensen (inkludert i det første domenet i det kimære peptidet som benyttet her) omfatte minst 1 eller til og med 2, fortrinnsvis minst 3, 4 eller 5, mer
40 foretrukket minst 6, 7, 8 eller 9, og enda mer foretrukket minst 10 eller flere D- og/eller L-aminosyrer, der D- og/eller L-aminosyrene kan være anbrakt i JNK-

trafikkeringssekvensene på en blokkvis, en ikke-blokkvis eller på en alternativ måte.

5 Ifølge én alternativ utførelsesform kan trafikkeringssekvensen i det kimære peptidet som benyttet her være utelukkende sammensatt av L-aminosyrer. Mer foretrukket omfatter eller består trafikkeringssekvensen i det kimære peptidet som benyttet her av minst én «nativ» trafikkeringssekvens som definert ovenfor. I denne konteksten refererer uttrykket «nativ» til ikke-endrede trafikkeringssekvenser som i sin helhet er sammensatt av L-aminosyrer.

10 Ifølge en annen alternativ utførelsesform kan trafikkeringssekvensen i det kimære peptidet som benyttet her være utelukkende sammensatt av D-aminosyrer. Mer foretrukket kan trafikkeringssekvensen i det kimære peptidet som benyttet her være sammensatt av et D-retro-invers-peptid av sekvensene som vist ovenfor.

15 Trafikkeringssekvensen i det første domenet av det kimære peptidet som benyttet her kan være oppnådd fra naturlig forekommende kilder, eller kan være fremstilt ved genetiske fremstillingsteknikker eller kjemisk syntese (se f.eks. Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T. (1989) *Molecular Cloning: A laboratory manual*, 2.utgave. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA).

20 Kilder for trafikkeringssekvensen i det første domenet kan bli benyttet inkludert f.eks. native proteiner slik som f.eks. TAT-proteinet (f.eks. som beskrevet i US patent nr. 5,804,604 og 5,674,980, dere hver av disse er inntatt her ved referanse), VP22 (beskrevet i f.eks. WO 97/05265, Elliott and O'Hare, *Cell* 88: 223-233 (1997)), ikke-virale proteiner (Jackson et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:10691-10695 (1992)), trafikkeringssekvenser avledet fra Antennapedia (f.eks. 25 antennapedia-bærersekvensen) eller fra basiske peptider, f.eks. peptider som har en lengde på 5 til 15 aminosyrer, fortrinnsvis 10 til 12 aminosyrer og som omfatter minst 80 %, mer foretrukket 85 % eller til og med 90 % basiske aminosyrer, slik som f.eks. arginin, lysin og/eller histidin. Videre er varianter, fragmenter og derivater av ett av de native proteinene benyttet som trafikkeringssekvenser 30 tilkjennegitt her. Med hensyn på varianter, fragmenter og derivater refereres det til definisjonen gitt ovenfor for JNK-inhibitorsekvenser som benyttet her. Varianter, fragmenter i tillegg til derivater er tilsvarende definert som fremlagt ovenfor for JNK-inhibitorsekvenser som benyttet her. Spesifikt, i konteksten av trafikkeringssekvensen, så kan en variant eller derivat bli definert som en sekvens 35 som deler en sekvensidentitet med ett av de native proteinene benyttet som trafikkeringssekvenser som definert ovenfor på minst omtrent 30 %, 50 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 98 % eller til og med 99 %.

I en foretrukket utførelsesform av det kimære peptidet som benyttet her omfatter eller består trafikkeringssekvensen i det første domenet av en sekvens som

er avledet fra det humane immunsviktvirus (HIV)1-TAT-proteinet, spesielt noen eller alle av de 86 aminosyrene som utgjør TAT-proteinet.

For en trafikkeringssekvens (som er inkludert i det første domenet i det kimære peptidet som benyttet her) kan partielle sekvenser av fullengde-TAT-proteinet bli benyttet for å danne et funksjonelt effektivt fragment av et TAT-protein, dvs., et TAT-peptid som inkluderer regionen som medierer inntrengning i og opptak inn i celler. Når det gjelder hvorvidt en slik sekvens er et funksjonelt effektivt fragment av TAT-proteinet kan bli bestemt ved å benytte kjente teknikker (se f.eks. Franked et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA 86:7397-7401 (1989)). Slik kan trafikkeringssekvensen i det første domenet av det kimære peptidet som benyttet her være avledet fra et funksjonelt effektivt fragment eller del av en TAT-proteinsekvens som omfatter mindre enn 86 aminosyrer, og som oppviser opptak inn i celler, og eventuelt opptaket inn i cellekjernen. Mer foretrukket er partielle sekvenser (fragmenter) av TAT som skal bli benyttet som bærer for å mediere permeasjon av det kimære peptidet over cellemembranen ment å skulle omfatte den basiske regionen (aminosyrene 48 til 57 eller 49 til 57) av fullengde-TAT.

Ifølge en mer foretrukket utførelsesform kan trafikkeringssekvensen (som er inkludert i det første domenet i det kimære peptidet som benyttet her) omfatte eller bestå av en aminosyresekvens inneholdende TAT-restene 48-57 eller 49-57, og mest foretrukket en generisk TAT-sekvens $\text{NH}_2\text{-X}_n^b\text{-RKKRRQRRR-X}_n^b\text{-COOH}$ (L-generisk-TAT (s)) (SEQ ID nr. 7) og/eller $\text{XXXXRKKRRQ RRRXXXX}$ (L-generisk-TAT) (SEQ ID nr. 21), der X eller X_n^b er som definert ovenfor. Videre er antallet « X_n^b »-rester i SEQ ID nr. 8 ikke begrenset til den som er vist, og kan variere som beskrevet ovenfor. Alternativt kan trafikkeringssekvensen som er inkludert i det første domenet av det kimære peptidet som benyttet her omfatte eller bestå av et peptid inneholdende f.eks. aminosyresekvensen $\text{NH}_2\text{-GRKKRRQRRR-COOH}$ (L-TAT) (SEQ ID nr. 5).

Ifølge en annen mer foretrukket utførelsesform kan trafikkeringssekvensen (som er inkludert i det første domenet i det kimære peptidet som benyttet her) omfatte et D-retro-invers-peptid av sekvensen som vist ovenfor, dvs., D-retro-invers-sekvensen av den generiske tAT-sekvensen som har sekvensen $\text{NH}_2\text{-X}_n^b\text{-RRRQRRKKR-X}_n^b\text{-COOH}$ (D-generiskTAT (s)) (SEQ ID nr. 8) og/eller XXXXRRRQRRKKRXXXX (D-generisk-TAT) (SEQ ID nr. 22). Også her er X_n^b som definert ovenfor (som fortrinnsvis representerer D-aminosyrer). Videre er antallet « X_n^b »-rester i SEQ ID nr. 8 ikke begrenset til den ene som er vist, og kan variere som beskrevet ovenfor. Mest foretrukket kan trafikkeringssekvensen som benyttet her omfatte D-retro-invers-sekvensen $\text{NH}_2\text{-RRRQRRKKRG-COOH}$ (D-TAT) (SEQ ID nr. 6).

Ifølge en annen utførelsesform kan trafikkeringssekvensen som er inkludert i det første domenet i det kimære peptidet som benyttet her omfatte eller bestå av

varianter av trafikkeringssekvensene som definert ovenfor. En «variant av en trafikkeringssekvens» er fortrinnsvis en sekvens avledet fra en trafikkeringssekvens som definert ovenfor, der varianten omfatter en modifisering, f.eks. addisjon, (intern) delesjon (som fører til fragmenter) og/eller substitusjon av minst én aminosyre som er til stede i trafikkeringssekvensen som definert ovenfor. Slike modifiseringer omfatter typisk 1 til 20, fortrinnsvis 1 til 10 og mer foretrukket 1 til 5 substitusjoner, addisjoner og/eller delesjoner av aminosyrer. Videre oppviser varianten fortrinnsvis en sekvensidentitet med trafikkeringssekvensen som definert ovenfor, mer foretrukket med enhver av SEQ ID nr. 5 til 8 eller 21-22, på minst omtrent 30 %, 50 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 98 % eller til og med 99 %.

Fortrinnsvis føre en slik modifisering av trafikkeringssekvensen som er inkludert i det første domenet av det kimære peptidet som benyttet her til en trafikkeringssekvens med økt eller minsket stabilitet. Alternativt kan varianter av trafikkeringssekvensen bli designet for å modulere intracellulær lokalisering av det kimære peptidet som benyttet her. Når de tilsettes eksogent er slike varianter som definert ovenfor typisk designet slik at trafikkeringssekvensenes evne til å trenge inn i celler blir opprettholdt (dvs., opptaket av varianten av trafikkeringssekvensen inn i cellen er vesentlig lik den for det native proteinet benyttet som trafikkeringssekvens). F.eks. kan endring av den basiske regionen som er antatt å være viktig for nukleær lokalisering (se f.eks. Dang og Lee, *J. Biol. Chem.* 264:18019-18023 (1989), Hauber et al., *J. Virol.* 63:1181-1187 (1989)) føre til en cytoplasmalokalisering eller partiell cytoplasmalokalisering av trafikkeringssekvensen, og derfor av JNK-inhibitorsekvensen som komponent av det kimære peptidet som benyttet her. I tillegg til det ovenstående kan ytterligere modifiseringer bli introdusert i varianten, f.eks. ved å koble til f.eks. kolesterol eller andre lipidenheter på trafikkeringssekvensen for å fremstille en trafikkeringssekvens som har økt løselighet i membranen. Enhver av variantene som er tilkjennegitt ovenfor av trafikkeringssekvensene som er inkludert i det første domenet til det kimære peptidet som benyttet her kan bli fremstilt ved å benytte teknikker som typisk er kjent for fagmannen på området (se f.eks. Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T. (1989) *Molecular Cloning: A laboratory manual*, 2.utgave. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA).

Som et andre domene består det kimære peptidet som benyttet her av JNK-inhibitorsekvensen ifølge SEQ ID nr. 2, inkludert derivater av denne JNK-inhibitorsekvensen.

Begge domener, dvs., det første og andre domenet i det kimære peptidet som benyttet her kan være koblet for slik å danne en funksjonell enhet. Enhver fremgangsmåte for kobling av det første og andre domenet, slik det generelt er kjent på fagområdet, kan bli benyttet.

Ifølge én utførelsesform er det første og andre domenet av det kimære peptidet slik det benyttes her fortrinnsvis koblet med en kovalent binding. En kovalent binding, som definert her, kan f.eks. være en peptidbinding. Likevel kan begge domener også være koblet via sidekjeder eller kan være koblet med en kjemisk linkerenheter.

Det første og andre domenet av det kimære peptidet som benyttet her foreligger i en enkelt kopi, det første domenet er koblet til den C-terminale enden av det andre domenet. Fortrinnsvis kan det første og andre domenet være direkte koblet til hverandre uten noen linker. Alternativt kan de være koblet til hverandre via en linkersekvens omfattende 1 til 10, fortrinnsvis 1 til 5 aminosyrer. Aminosyrer som utgjør linkersekvensen er fortrinnsvis valgt fra glysin eller prolin som aminosyrerester. Mer foretrukket kan det første og andre domenet være separert fra hverandre med en hengsle på to, tre eller flere prolinrester mellom det første og andre domenet.

Det kimære peptidet som definert ovenfor og som benyttet her, som omfatter minst ett første og minst ett andre domene, er sammensatt av D-aminosyrer. I dette er hvert domene sammensatt av D-aminosyrer (D-IB1(s), osv.). Fortrinnsvis kan det kimære peptidet som benyttet her omfatte minst 1 eller til og med 2, fortrinnsvis 3, 4 eller 5, mer foretrukket minst 6, 7, 8 eller 9 og enda mer foretrukket minst 10 eller flere D-aminosyrer, der D-aminosyrene kan være anbrakt i det kimære peptidet som benyttet her på en blokkvis, en ikke-blokkvis eller en alternativ måte.

Ifølge en spesifikk utførelsesform består det kimære peptidet som benyttet her av D-aminosyrekimære peptider ifølge TAT-IB1-peptidet NH₂DQSRPVQPFLNLTPRKPRPPRRRQRRKKRG-COOH (D-TAT-IB1(s)) (SEQ ID nr. 11). Alternativt eller i tillegg omfatter eller består det kimære peptidet som benyttet her av den D-aminosyrekimære peptidsekvensen DQSRPVQPFLNLTPRKPRPPRRRQRRKKR (D-TAT-IB1(s1)) (SEQ ID nr. 30), DQSRPVQPFLNLTPRKPRX_n^cRRRQRRKKRG (D-TAT-IB1(s2)) (SEQ ID nr. 31), eller DQSRPVQPFLNLTPRKPRX_n^cRRRQRRKKR (D-TAT-IB1(s3)) (SEQ ID nr. 32), der X fortrinnsvis også er som definert ovenfor. I denne konteksten representerer hver X typisk en aminosyrerest som definert ovenfor, mer foretrukket representerer X_n^c en kontinuerlig strekning med peptidrester, der hver X uavhengig er valgt fra hverandre fra glysin eller prolin, f.eks. en monoton glysinstrekning eller en monoton prolinstrekning, der n (antallet repetisjoner av X_n^c) typisk er 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 eller enda mer foretrukket 0-5 eller 5-10. X_n^c kan representere enten D- eller L-aminosyrer. Det første og andre domenet av det kimære peptidet som definert ovenfor kan være koblet til hverandre ved kjemisk eller biokjemisk kobling utført på enhver passende måte som er kjent på fagområdet, f.eks. ved å etablere en peptidbinding mellom det første og andre domenet, f.eks. ved å kryssbinde det første og andre domenet i det kimære peptidet som definert ovenfor.

Mange kjent fremgangsmåter som er passende til kjemisk kryssbinding av det første og andre domenet i det kimære peptidet som definert ovenfor er ikke-spesifikke, dvs., de styrer ikke punktet for kobling til noe spesifikt sete på transportpolypeptidet eller det fraktete makromolekylet. Som et resultat av dette kan anvendelse av ikke-spesifikke kryssbindingsmidler angripe funksjonelle seter eller sterisk blokkere aktive seter, og gjøre de konjugerte proteinene biologisk inaktive. Slik blir fortrinnsvis slike kryssbindingsfremgangsmåter benyttet som tillater en mer spesifikk kobling av det første og andre domenet.

I denne konteksten er én måte å øke koblingsspesifisitet på en direkte kjemisk kobling til en funksjonell gruppe som kun foreligger én gang eller noen få ganger på én av eller begge av det første og andre domenet som skal krysskobles. F.eks. forekommer cystein, som er den eneste protein-aminosyren som inneholder en tiolgruppe, i mange proteiner kun noen få ganger. Også, f.eks. hvis et polypeptid ikke inneholder noen lysinrester, så vil et kryssbindingsreagens som er spesifikt for primære aminer være selektivt for aminoterminalen på dette polypeptidet. Vellykket anvendelse av denne tilnærmingen for å øke koblingsspesifisitet krever at polypeptidet har de passende sjeldne og reaktive restene i områder i molekylet som kan bli endret uten tap av molekylets biologiske aktivitet. Cysteinrester kan bli erstattet når de foreligger i deler av polypeptidsekvensen der deres deltagelse i en kryssbindingsreaksjon ellers sannsynligvis ville interferere med den biologiske aktiviteten. Når en cysteinrest blir erstattet er det typisk ønskelig å minimere de resulterende endringene i polypeptidfoldning. Endringer i polypeptidfoldning blir minimert når utskiftningen er kjemisk og sterisk tilsvarende cystein. Av disse grunner er serin foretrukket som en erstatning for cystein. Som vist i eksemplene nedenfor kan en cysteinrest bli introdusert i polypeptidets aminosyresekvens for kryssbindingsformål. Når en cysteinrest blir introdusert er introduksjon på eller nær den amino- eller karboksyterminale enden foretrukket. Konvensjonelle fremgangsmåter er tilgjengelige for slike aminosyresekvensmodifiseringer, der polypeptidet av interesse blir fremstilt ved kjemisk syntese.

Kobling av det første og andre domenet på det kimære peptidet som definert ovenfor og benyttet her kan også bli utført via et koblings- eller konjugeringsmiddel. Det finnes flere intermolekylære kryssbindingsreagenser som kan bli benyttet (se f.eks. Means og Feeny, *Chemical Modification of Proteins*, Holden-Day, 1974, s.39-43). Blant disse reagensene er f.eks. N-suksinimidyl-3-(2-pyridyltio)-propionat (SPDP) eller N,N'-(1,3-fenyl)-bismaleimid (der begge er svært spesifikke for sulfhydrylgrupper og danner irreversible koblinger), N,N'-etylen-bis-(jodacetamid) eller annet slikt reagens som har 6 til 11 karbon-metylenbruer (som er relativt spesifikke for sulfhydrylgrupper) og 1,5-difluor-2,4-dinitrobenzen (som danner irreversible koblinger med amino- og tyrosingrupper). Andre kryssbindingsreagenser som er nyttige til dette formålet inkluderer: p,p'-difluor-m, m'-dinitrodifenylsulfon som danner irreversible kryssbindinger med

amino- og fenolgrupper, dimetyladiimidat (som er spesifikk for aminogru-
 penner), fenol-1,4-disulfonylchlorid (som prinsipielt reagerer med aminogru-
 penner), heksametylendiisocyanat, eller azofenyl-p-diisocyanat (som prinsipielt reagerer med
 aminogru-
 penner), glutaraldehyd (som reagerer med flere ulike sidekjeder) og
 5 disdiazobenzidin (som primært reagerer med tyrosin og histidin).

Kryssbindingsreagenser benyttet til kryssbinding av det første og andre domenet av
 det kimære peptidet som definert ovenfor kan være homobifunksjonelle, dvs., ha to
 funksjonelle grupper som gjennomgår den samme reaksjonen. Et foretrukket
 homobifunksjonelt kryssbindingsreagens er bismaleimidoheksan («BMH»). BMH
 10 inneholder to funksjonelle maleimidgrupper som reagerer spesifikt med
 sulfhydrylinneholdende forbindelser ved milde betingelser (pH 6,5-7,7). De to
 maleimidgruppene er forbundet med en hydrokarbonkjede. Derfor er BMH nyttig til
 irreversibel kryssbinding av polypeptider som inneholder cysteinrester.

Kryssbindingsreagenser benyttet til kryssbinding av det første og andre
 15 domenet i det kimære peptidet som definert ovenfor kan også være
 heterobifunksjonelt. Heterobifunksjonelle kryssbindingsmidler har to ulike
 funksjonelle grupper, f.eks. en amin-reaktiv gruppe og en tiol-reaktiv gruppe, som
 henholdsvis vil kryssbinde to proteiner som har frie aminer og tioler. Eksempler på
 heterobifunksjonelle kryssbindingsmidler er suksinimidyl-4-(N-maleimidometyl)-
 20 sykloheksan-1-karboksylat («SMCC»), m-maleimidobenzoyl-N-
 hydroksysuksinimidester («MBS») og suksinimid-4-(p-maleimidofenyl)-butyrat
 («SMPB»), som er en kjedeforlenget analog av MBS. Suksinimidylgruppen på disse
 kryssbinderne reagerer med et primært amin, og det tiolreaktive maleimidet danner
 en kovalent binding med tiolen på en cysteinrest.

Kryssbindingsreagenser som er passende for kryssbinding av det første og
 25 andre domenet i det kimære peptidet som definert ovenfor har ofte lav løselighet i
 vann. En hydrofil enhet slik som en sulfonatgruppe kan slik bli addert på
 kryssbindingsreagenset for å forbedre dets løselighet i vann. I så henseende er
 Sulfo-MBS og Sulfo-SMCC eksempler på kryssbindingsreagenser som er modifisert
 30 for vannløselighet, som kan bli benyttet i overensstemmelse med foreliggende
 oppfinnelse.

Likeledes gir mange kryssbindingsreagenser et konjugat som essensielt er
 ikke-kløyvbart ved cellulære betingelser. Likevel inneholder noen
 kryssbindingsreagenser som er spesielt passende for kryssbinding av det første og
 35 andre domenet i det kimære peptidet som definert ovenfor en kovalent binding, slik
 som et disulfid, som er kløyvbar ved cellulære betingelser. F.eks. er Trauts reagens,
 ditiobis(suksinimidylpropionat) («DSP») og N-suksinimidyl-3-(2-pyridylditio)-
 propionat («SPDP») velkjente kløyvbare kryssbindere. Anvendelsen av et kløyvbart
 kryssbindingsmiddel gjør det mulig for den fraktete enheten å bli separert fra

transportpolypeptidet etter levering inn i målcellen. Direkte disulfidbinding kan også være nyttig.

5 Utallige kryssbindingsmidler, inkludert de som er diskutert ovenfor, er kommersielt tilgjengelige. Detaljerte instruksjoner for deres anvendelse er enkelt tilgjengelig fra de kommersielle tilbyderne. En generell referanse som gjelder proteinkryssbinding og konjugatfremstilling er: Wong, Chemistry of Protein Conjugation and Crosslinking, CRC Press (1991).

10 Kjemisk kryssbinding av det første og andre domenet i det kimære peptidet som definert ovenfor inkluderer anvendelsen av spacer-armede spacer-armede tilveiebringer intramolekylær fleksibilitet eller justerer intramolekylære avstander mellom konjugatenheter og kan derved hjelpe til å bevare biologisk aktivitet. En spacer-arm kan foreligge i formen av en polypeptid enhet som inkluderer spacer-aminosyrer, f.eks. prolin. Alternativt kan en spacer-arm være del av kryssbindingsreagenset, slik som i «langkjede-SPDP» (Pierce Chem. Co., Rockford IL., katalognummer 21651 H).

15 Videre kan varianter, fragmenter eller derivater av ett eller flere av de ovenfor tilkjenngitte kimære peptidene bli benyttet her. Med hensyn på fragmenter og varianter blir det generelt referert til definisjonen ovenfor gitt for JNK-inhibitorsekvenser.

20 I konteksten av foreliggende oppfinnelse er spesifikt en «variant av et kimært peptid» fortrinnsvis en sekvens som er avledet fra enhver av sekvensene ifølge SEQ ID nr. 11, 30 til 32, der den kimære varianten omfatter aminosyre-enderinger i de kimære peptidene i overensstemmelse med SEQ ID nr. 11, 30 til 32 som benyttet her. Slike endringer omfatter typisk 1 til 20, fortrinnsvis 1 til 10 og mer foretrukket

25 1 til 5 substitusjoner, addisjoner og/eller delesjoner (som fører til fragmenter) av aminosyrer ifølge SEQ ID nr. 11, 30 til 32, der det endrede, kimære peptidet som benyttet her oppviser en sekvensidentitet med enhver av sekvensene ifølge SEQ ID nr. 11, 30 til 32 på minst omtrent 30 %, 50 %, 70 %, 80 % eller 95 %, 98 %, eller til og med 99 %. Fortrinnsvis opprettholder disse variantene den biologiske aktiviteten

30 til det første og andre domenet som inneholdt i det kimære peptidet som benyttet her, dvs., trafikkeringsaktiviteten til det første domenet som tilkjenngitt ovenfor og aktiviteten til det andre domenet for binding av JNK og/eller inhibering av aktiveringen av minst én JNK-aktivert transkripsjonsfaktor.

35 Dermed omfatter det kimære peptidet som benyttet her også fragmenter av de tidligere tilkjenngitte kimære peptidene, spesielt av de kimære peptidsekvensene ifølge enhver av SEQ ID nr. 11, 30 til 32. I konteksten av foreliggende oppfinnelse er slik et «fragment av det kimære peptidet» fortrinnsvis en sekvens som er avledet fra enhver av sekvensene ifølge SEQ ID nr. 11, 30 til 32, der fragmentet omfatter minst 4 kontinuerlige aminosyrer ifølge enhver av SEQ ID

40 nr. 11, 30 til 32. Dette fragmentet omfatter fortrinnsvis en lengde som er

tilstrekkelig til å tillate spesifikk gjenkjenning av en epitop fra enhver av disse sekvensene og for å transportere sekvensene inn i cellene, kjernen eller en annen foretrukket lokalisering. Enda mer foretrukket omfatter fragmentene 4 til 18, 4 til 15 eller mest foretrukket 4 til 10 kontinuerlige aminosyrer ifølge enhver av SEQ ID nr. 11, 30 til 32. Fragmenter av det kimære peptidet som benyttet her kan videre bli definert som en sekvens som deler en sekvensidentitet med enhver av sekvensene ifølge enhver av SEQ ID nr. 11, 30 til 32 på minst omtrent 30 %, 50 %, 70 %, 80 %, eller 95 %, 98 % eller til og med 99 %.

Til slutt omfatter det kimære peptidet som benyttet her også derivater av de tidligere tilkjennegitte kimære peptidene, spesielt de kimære peptidsekvensene ifølge SEQ ID nr. 11, 30 til 32.

JNK-inhibitorsekvensene, de kimære peptidene, som definert ifølge oppfinnelsen kan bli formulert i en farmasøytisk sammensetning, som kan bli benyttet i forebyggingen eller behandlingen av enhver av sykdommene som definert her, spesielt i forebyggingen eller behandlingen av sykdommer eller forstyrrelser som er sterkt relatert til JNK-signalisering som definert her. Typisk inkluderer en slik farmasøytisk sammensetning benyttet ifølge foreliggende oppfinnelse som en aktiv komponent, f.eks.: (i) enhver én av eller flere av JNK-inhibitorsekvensene og/eller de kimære peptidene som definert ovenfor, og/eller varianter, fragmenter eller derivater derav, spesielt JNK-inhibitorsekvenser ifølge SEQ ID nr. 2 og/eller kimære peptider ifølge SEQ ID nr. 11, 30 til 32, og/eller JNK-inhibitorsekvenser ifølge SEQ ID nr. 2 som omfatter en trafikkeringssekvens ifølge enhver av SEQ ID nr. 5 til 8 og 21 til 22, eller varianter eller fragmenter derav innenfor definisjonene ovenfor.

Ifølge en foretrukket utførelsesform omfatter en slik farmasøytisk sammensetning som benyttet ifølge foreliggende oppfinnelse typisk en trygg og effektiv mengde av en komponent som definert ovenfor, fortrinnsvis av minst én JNK-inhibitorsekvens ifølge SEQ ID nr. 2 og/eller minst ett kimært peptid ifølge SEQ ID nr. 11, 30 til 32, og/eller minst én JNK-inhibitorsekvens ifølge enhver av sekvensene ifølge SEQ ID nr. 2 som omfatter en trafikkeringssekvens ifølge enhver av SEQ ID nr. 5-8 og 21 til 22, eller varianter eller fragmenter derav innenfor definisjonene ovenfor, eller minst én nukleinsyre som koder for samme.

Oppfinnerne av foreliggende oppfinnelse fant ytterligere at henholdsvis JNK-inhibitorsekvensen og det kimære peptidet, som definert her, oppviser en spesielt god opptaksrate inn i celler involvert i sykdommene ifølge foreliggende oppfinnelse. Derfor kan mengden av henholdsvis en JNK-inhibitorsekvens og kimært peptid, i den farmasøytiske sammensetningen som skal administreres til et individ, uten å være begrenset dertil, ha en svært lav dose. Slik aan dosen være mye lavere enn for peptid-legemidler som er kjent på fagområdet, slik som DTS-108 (Florence Meyer-Losic et al., Clin. Cancer Res., 2008, 2145-53). Dette har flere

positive aspekter, f.eks. en reduksjon i potensielle bivirkninger og en reduksjon av kostnader.

5 Fortrinnsvis ligger dosen (per kg kroppsvekt) i området opp til 10 mmol/kg, fortrinnsvis opp til 1 mmol/kg, mer foretrukket opp til 100 µmol/kg, enda mer foretrukket opp til 10 µmol/kg, enda mer foretrukket opp til 1 µmol/kg, enda mer foretrukket opp til 100 nmol/kg, mest foretrukket opp til 50 nmol/kg.

10 Slik kan doseringsområdet fortrinnsvis være fra omtrent 1 pmol/kg til omtrent 1 mmol/kg, fra omtrent 10 pmol/kg til omtrent 0,1 mmol/kg, fra omtrent 10 pmol/kg til omtrent 0,01 mmol/kg, fra omtrent 50 pmol/kg til omtrent 1 µmol/kg, fra omtrent 100 pmol/kg til omtrent 500 nmol/kg, fra omtrent 200 pmol/kg til omtrent 300 nmol/kg, fra omtrent 300 pmol/kg til omtrent 100 nmol/kg, fra omtrent 500 pmol/kg til omtrent 50 nmol/kg, fra omtrent 750 pmol/kg til omtrent 30 nmol/kg, fra omtrent 250 pmol/kg til omtrent 5 nmol/kg, fra omtrent 1 nmol/kg til omtrent 10 nmol/kg, eller en kombinasjon av hvilke to som helst av nevnte verdier.

15 I denne konteksten er reseptskriving for behandling, f.eks. avgjørelser vedrørende dosering osv., når den farmasøytiske sammensetningen ovenfor benyttes, typisk innenfor ansvarsområdet til generelle utøvere og andre medisinske
20 doktorer, og tar typisk hensyn til forstyrrelsen som skal bli behandlet, tilstanden til den individuelle pasienten, leveringsstedet, fremgangsmåten for administrering og andre faktorer som er kjent for utøvere. Eksempler på teknikker og protokoller nevnt ovenfor kan bli funnet i Remington's Pharmaceutical Sciences, 16. utgave, Osol, A. (red.), 1980. Dermed betyr en «sikker og effektiv mengde» som definert ovenfor for komponenter av de farmasøytiske sammensetningene som benyttet ifølge foreliggende oppfinnelse en mengde med hver av eller alle disse
25 komponentene som er tilstrekkelig til signifikant å indusere en positiv modifisering av sykdommer eller forstyrrelser som er sterkt relatert til JNK-signalisering som definert her. Samtidig er likevel en «sikker og effektiv mengde» liten nok til å unngå alvorlige bivirkninger, det vil si å muliggjøre et fornuftig forhold mellom fortrinn og risiko. Bestemmelsen av disse begrensningene ligger typisk innenfor
30 omfanget av fornuftig medisinsk bedømmelse. En «sikker og effektiv mengde» av en slik komponent vil variere i sammenheng med den spesifikke tilstanden som skal behandles og også med alderen og den fysiske tilstanden til pasienten som skal behandles, alvorligheten av tilstanden, varigheten av behandlingen, karakteren til den tilhørende terapien, med den spesifikke farmasøytiske bærer som benyttes, og
35 liknende faktorer, innenfor kunnskapen og erfaringen til den veiledende doktoren. De farmasøytiske sammensetningene ifølge oppfinnelsen kan bli benyttet i overensstemmelse med oppfinnelsen til humanmedisinske og også veterinærmedisinske formål.

40 Den farmasøytiske sammensetningen som benyttet ifølge foreliggende oppfinnelse kan videre i tillegg til ett av disse stoffene omfatte en (kompatibel)

farmasøytisk akseptabel bærer, eksipiens, buffer, stabilisator eller andre materialer som er velkjente for fagfolk på området.

I denne konteksten inkluderer uttrykket «(kompatibel) farmasøytisk akseptabel bærer» fortrinnsvis den flytende eller ikke-flytende basisen for sammensetningen. Uttrykket «kompatibel» betyr at bestanddelene av den farmasøytiske sammensetningen som benyttet her er i stand til å bli blandet med den farmasøytisk aktive komponenten som definert ovenfor og med én annen komponent på en slik måte at det ikke forekommer noen interaksjon som vil vesentlig redusere den farmasøytiske effektiviteten til sammensetningen ved vanlige anvendelsesbetingelser.

Farmasøytisk akseptable bærere må selvfølgelig ha tilstrekkelig høy renhet og tilstrekkelig lav toksisitet for å gjøre dem hensiktsmessige for administrering til en person som skal behandles.

Dersom den farmasøytiske sammensetningen som benyttet her blir tilveiebrakt i flytende form vil den farmasøytisk akseptable bæreren typisk omfatte én eller flere (kompatible) farmasøytisk akseptable flytende bærere. Sammensetningen kan som (kompatible) farmasøytisk akseptable flytende bærere omfatte f.eks. pyrogenfritt vann, isoton saltløsning eller bufrede (vandige) løsninger, f.eks. fosfatbufrede, sitratbufrede løsninger osv., vegetabiliske oljer slik som f.eks. jordnøttolje, bomullsfrøolje, sesamolje, olivenolje, maisolje og olje fra theobroma, polyoler slik som f.eks. polypropylenglykol, glyserol, sorbitol, mannitol og polyetylenglykol, alginsyre osv. Spesielt for injeksjon av den farmasøytiske sammensetningen som benyttet her kan en buffer, fortrinnsvis en vandig buffer, bli benyttet.

Dersom den farmasøytiske sammensetningen som benyttet her er tilveiebrakt i fast form vil den farmasøytisk akseptable bæreren typisk omfatte én eller flere (kompatible) farmasøytisk akseptable faste bærere. Sammensetningen kan omfatte som (kompatible) farmasøytisk akseptable faste bærere, f.eks. ett eller flere kompatible faste eller flytende fyllmidler eller fortynningsmidler eller innkapslende forbindelser kan bli benyttet i tillegg, som er passende for administrering til en person. Noen eksempler på slike (kompatible) farmasøytisk akseptable faste bærere er f.eks. sukkertyper slik som f.eks. laktose, glukose og sukrose, stivelser slik som f.eks. maisstivelse eller potetstivelse, cellulose og dens derivater slik som f.eks. natriumkarboksymetylcellulose, etylcellulose, celluloseacetat, pulverisert tragant, malt, gelatin, talg, faste glidemidler slik som f.eks. stearinsyre, magnesiumstearat, kalsiumsulfat osv.

Den nøyaktige karakteren til den (kompatible) farmasøytisk akseptable bæreren eller annet materiale kan være avhengig av administreringsruten. Valget av en (kompatibel) farmasøytisk akseptabel bærer kan slik i prinsippet bli bestemt ved måten den farmasøytiske sammensetningen som benyttet ifølge oppfinnelsen blir

administrert på. Den farmasøytiske sammensetningen som benyttet ifølge oppfinnelsen kan bli administrert f.eks. systemisk. Administreringsruter inkluderer f.eks. parenteralt (f.eks. via injeksjon), slik som intravenøst, intramuskulært, subkutant, intradermalt eller transdermalt osv., enteralt slik som oralt eller rektalt osv., topisk slik som nasalt eller intranasalt osv., eller på andre måter slik som epidermalt eller ved plasterlevering.

Den passende mengden av den farmasøytiske sammensetningen som skal benyttes kan bli bestemt ved hjelp av rutinemessige eksperimenter med dyremodeller. Slike modeller inkluderer, uten å antyde noen begrensning, kanin-, får-, mus-, rotte-, hund- og ikke-humane primatmodeller. Foretrukne enhetsdoseringsformer for injeksjon inkluderer sterile løsninger av vann, fysiologisk saltløsning eller blandinger derav. pH i slike løsninger bør bli justert til omtrent 7,4. Passende bærere for injeksjon inkluderer hydrogeler, innretninger for kontrollert eller forsinket frigjøring, polymelkesyre og kollagenmatriser. Passende farmasøytisk akseptable bærere for topisk applikasjon inkluderer de som er hensiktsmessige for anvendelse i lotion, kremer, geler og liknende. Dersom forbindelsen skal administreres peroralt er tabletter, kapsler og liknende den foretrukne enhetsdoseringsformen. De farmasøytisk akseptable bærerne for fremstillingen av enhetsdoseringsformer, som kan bli benyttet til oral administrering, er velkjente på fagområdet. Valget derav vil være avhengig av sekundære overveielser slik som smak, kostnad og lagringsevne, som ikke er avgjørende for formålene med foreliggende oppfinnelse, og kan bli utført uten vanskelighet av en fagmann på området.

Farmasøytiske sammensetninger for oral administrering kan foreligge i tablett-, kapsel-, pulver- eller flytende form. En tablett kan inkludere en fast bærer som definert ovenfor, slik som gelatin, og eventuelt en adjuvans. Flytende farmasøytiske sammensetninger til oral administrering kan generelt inkludere en flytende bærer som definert ovenfor, slik som vann, petroleum, animalske eller vegetabiliske oljer, mineralolje eller syntetisk olje. Fysiologisk saltløsning, dekstrose eller annen sakkaridløsning eller glykoler slik som etylenglykol, propylenglykol eller polyetylglykol kan bli inkludert.

For intravenøs, kutan eller subkutan injeksjon, eller injeksjon på stedet for plage vil den aktive ingrediensen foreligge i formen av en parenteralt akseptabel vandig løsning som er pyrogenfri og har en passende pH, isotonisitet og stabilitet. De med relevant erfaring på fagområdet er godt i stand til å fremstille passende løsninger ved f.eks. å benytte isotone vehikler slik som natriumkloridinjeksjon, Ringers løsning, laktert Ringers løsning. Preserveringsmidler, stabilisatorer, buffere, antioksidanter og/eller andre tilsetningsstoffer kan bli inkludert etter behov. Uansett om det er et polypeptid, peptid, eller nukleinsyremolekyl, annen farmasøytisk nyttig forbindelse ifølge foreliggende oppfinnelse som skal gis til et individ, så er administrering fortrinnsvis i en «profylaktisk effektiv mengde» eller

en «terapeutisk effektiv mengde», der dette er tilstrekkelig til å vise seg å være til gagn for individet. Den faktiske mengden som administreres, og raten og tidsforløpet for administrering, vil være avhengig av karakteren og alvorligheten av det som blir angrepet.

5 Forebygging og/eller behandling av en sykdom som definert her inkluderer typisk administrering av en farmasøytisk sammensetning som definert ovenfor. Uttrykket «modulere» inkluderer undertrykkelsen av JNK når den overuttrykkes i enhver av sykdommene ovenfor. Det inkluderer også undertrykkelse av fosforylering av c-jun, ATF2 eller NFAT4 i enhver av sykdommene ovenfor, f.eks. ved å benytte minst én JNK-inhibitorsekvens ifølge SEQ ID nr. 2 og/eller minst ett kimært peptid ifølge SEQ ID nr. 30 til 32 og/eller minst én JNK-inhibitorsekvens ifølge SEQ ID nr. 2 omfattende en trafikkeringssekvens ifølge enhver av SEQ ID nr. 5 til 8 og 21-22, eller varianter eller fragmenter derav innenfor definisjonene ovenfor, som en kompetitiv inhibitor av det naturlige c-jun-, ATF2- og NFAT4-bindingsetet i en celle. Uttrykket «modulere» inkluderer også undertrykkelse av hetero- og homomere komplekser av transkripsjonsfaktorer sammensatt av, uten begrensning til dette, c-jun, ATF2 eller NFAT4 og deres relaterte partnere, slik som f.eks. AP-1-kompleks som utgjøres av c-jun, AFT2 og c-fos. Når en sykdom eller forstyrrelse som er sterkt relatert til JNK-signalisering som definert ovenfor er assosiert med JNK-overuttrykking så kan slike undertrykkende JNK-inhibitorsekvenser bli introdusert til en celle. I noen tilfeller kan «modulere» da inkludere økningen av JNK-uttrykking, f.eks. ved anvendelse av et IB-peptidspesifikt antistoff som blokkerer bindingen av et IB-peptid til JNK, for slik å forhindre JNK-inhibering ved det IB-relaterte peptidet.

25 Forebygging og/eller behandling av et individ med den farmasøytiske sammensetningen som tilkjennegett ovenfor kan typisk bli oppnådd ved administrering (in vivo) av en («terapeutisk effektiv») mengde av nevnte farmasøytiske sammensetning til et individ, der individet f.eks. kan være ethvert pattedyr, f.eks. et menneske, en primat, mus, rotte, hund, katt, ku, hest eller svin. Uttrykket «terapeutisk effektiv» betyr at den aktive komponenten i den farmasøytiske sammensetningen foreligger i tilstrekkelig mengde til å lindre sykdommen eller forstyrrelsen som er sterkt relatert til JNK-signalisering som definert ovenfor.

35 Dermed kan ethvert peptid som definert ovenfor, f.eks. minst én JNK-inhibitorsekvens ifølge SEQ ID nr. 2 og/eller minst ett kimært peptid ifølge SEQ ID nr. 11, 30 til 32 og/eller minst én JNK-inhibitorsekvens ifølge SEQ ID nr. 2 omfattende en trafikkeringssekvens ifølge enhver av SEQ ID nr. 5 til 8 og 21-22, eller varianter eller fragmenter derav innenfor definisjonene ovenfor, bli benyttet i en spesifikk utførelsesform av foreliggende oppfinnelse for å behandle sykdommer som er sterkt relatert til JNK-signalisering som definert ovenfor, f.eks. ved 40 modulering av aktiverte JNK-signaliseringsveier.

For behandling av sykdommer som nevnt her kan målrettede terapier bli benyttet for å levere JNK-inhibitorsekvensen og/eller de kimære peptidene, som definert ovenfor mer spesifikt for visse celletyper, ved anvendelsen av et målrettede systemer slik som (et målrettet) antistoff eller cellespesifikke ligander. Antistoffer benyttet til målretting er typisk spesifikke for celleoverflateproteiner på celler assosiert med enhver av sykdommene definert nedenfor. For eksemplets del kan disse antistoffene være rettet på celleoverflateantistoffer slik som f.eks. B-celleassosierte overflateproteiner slik som MHC-klasse-II-DR-protein, CD18 (LFA-1-betakjede), CD45RO, CD40 eller Bgp95 eller celleoverflateproteiner valgt fra f.eks. CD2, CD4, CD5, CD7, CD8, CD9, CD 10, CD13, CD16, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD25, CD30, CD33, CD34, CD38, CD39, CD40, CD43, CD45, CD52, CD56, CD68, CD71, CD138 osv. Målrettede konstruksjoner kan typisk bli klargjort ved kovalent binding av JNK-inhibitorsekvensene og de kimære peptidene som definert her ifølge oppfinnelsen til et antistoff spesifikt for et celleoverflateprotein eller ved binding av en cellespesifikk ligand. Proteiner kan f.eks. bli bundet til et slikt antistoff eller kan bli festet dertil ved en peptidbinding eller med kjemisk kobling, kryssbinding osv. Den målrettede terapien kan deretter bli utført ved å administrere den målrettede konstruksjonen i en farmasøytisk effektiv mengde til en pasient ved hjelp av enhver av administreringsrutene som er definert nedenfor, f.eks. intraperitonalt, nasalt, intravenøst, oralt og ved plasterlevering. Fortrinnsvis kan JNK-inhibitorsekvensene eller de kimære peptidene som definert her ifølge oppfinnelsen, der disse er festet til de målrettede antistoffene eller de cellespesifikke ligandene som definert ovenfor, bli frigjort in vitro eller in vivo, f.eks. ved hydrolyse av den kovalente bindingen, ved peptidaser eller ved enhver annen passende fremgangsmåte. Alternativt, dersom JNK-inhibitorsekvensene, de kimære peptidene eller nukleinsyrene som definert her ifølge oppfinnelsen er festet til en liten cellespesifikk ligand, så er det ikke sikkert frigjøring av liganden er mulig. Dersom de foreligger på celleoverflaten kan de kimære peptidene trenge inn i cellen ved hjelp av aktiviteten til sin trafikkeringssekvens. Målretting kan være ønskelig av en mengde grunner, f.eks. dersom JNK-inhibitorsekvensene og de kimære peptidene som definert her ifølge oppfinnelsen er uakseptabelt toksiske eller dersom det på annen måte ville kreve en for stor dose.

Alternativt kan JNK-inhibitorsekvensene og/eller de kimære peptidene som definert her bli administrert i en forløperform ved hjelp av et antistoff. Disse JNK-inhibitorsekvensene og/eller de kimære peptidene kan da bli konvertert til den aktive formen ved et aktiverende middel produsert i, eller rettet mot, cellene som skal behandles. Denne typen tilnærming er noen ganger kjent som ADEPT (antistoffrettet enzym-prolegemiddelterapi) som involverer målretting av det aktiverende middelet til cellene ved konjugering til et cellespesifikt antistoff.

Ifølge en ytterligere utførelsesform kan JNK-inhibitorsekvensene, de kimære peptidene eller antistoffer mot JNK-inhibitorsekvensene eller de kimære peptidene som definert her, f.eks. en JNK-inhibitorsekvens ifølge SEQ ID nr. 2 og/eller et kimært peptid ifølge SEQ ID nr. 30 til 32 og/eller en JNK-inhibitorsekvens ifølge SEQ ID nr. 2 omfattende en trafikkeringssekvens ifølge enhver av SEQ ID nr. 5 til 8 og 21-22, eller varianter eller fragmenter derav innenfor definisjonene ovenfor, bli benyttet i (in vitro) analyser (f.eks. immunanalyser) for å påvise, prognostisere, diagnostisere eller overvåke ulike tilstander og sykdomstilstander valgt fra sykdommer eller forstyrrelser som er sterkt relatert til JNK-signalisering som definert ovenfor, eller overvåke behandling derav. Immunanalysene kan bli utført med en fremgangsmåte omfattende å kontakte en prøve avledet fra en pasient med et antistoff mot en JNK-inhibitorsekvens eller et kimært peptid, som definert ovenfor, ved betingelser slik at immunspezifikk binding kan forekomme, og deretter påvise eller måle mengden immunspezifikk binding ved antistoffet. I en spesifikk utførelsesform kan et antistoff spesifikt for en JNK-inhibitorsekvens eller et kimært peptid bli benyttet for å analysere en vevs- eller serumprøve fra en pasient for tilstedeværelsen av JNK eller en JNK-inhibitorsekvens, der et avvikende nivå av JNK er indikativt på en sykdomstilstand. Immunanalysene som kan bli benyttet inkluderer, men er ikke begrenset til, kompetitive og ikke-kompetitive analysesystemer ved å benytte teknikker slik som Western-blotting, radioimmunanalyser (RIA), enzytbundet immunsorbent analyse (ELISA), «sandwich»-immunanalyser, immunpresipiteringsanalyser, presiptinreaksjoner, geldiffusjon-presiptinreaksjoner, immundiffusjonsanalyser, agglutineringsanalyser, fluorescens-immunanalyser, komplementfikseringsanalyser, immunoradiometriske analyser og protein-A-immunanalyser osv. Alternativt kan (in vitro) analyser bli utført ved levering av JNK-inhibitorsekvensene, de kimære peptidene eller antistoffene til JNK-inhibitorsekvensene eller til kimære peptider, som definert ovenfor, for å målsøke celler som typisk er valgt fra f.eks. dyrkede dyreceller, humane celler eller mikroorganismer, og for å overvåke celleresponsen ved biofysiske fremgangsmåter som typisk er kjent for en fagmann. Mållcellene som typisk benyttes der kan være dyrkede celler (in vitro) eller celler in vivo, dvs., celler som utgjør organene eller vevene i levende dyr eller mennesker, eller mikroorganismer som er funnet i levende dyr eller mennesker.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer ytterligere anvendelsen av sett for diagnostiske eller terapeutiske formål, spesielt for behandlingen, forebyggingen eller overvåkingen av sykdommer og forstyrrelser som er sterkt relatert til JNK-signalisering som definert ovenfor, der settet inkluderer én eller flere beholdere inneholdende JNK-inhibitorsekvenser, kimære peptider og/eller antistoffer mot disse JNK-inhibitorsekvensene eller mot kimære peptider som definert ovenfor, f.eks. et anti-JNK-inhibitorsekvensantistoff mot en JNK-inhibitorsekvens ifølge SEQ ID nr. 2, mot et kimært peptid ifølge SEQ ID nr. 11, 30 til 32, mot en JNK-

inhibitorsekvens ifølge SEQ ID nr. 2 som omfatter en trafikkeringssekvens ifølge enhver av SEQ ID nr. 5 til 8 og 21-22, eller mot varianter eller fragmenter derav innenfor definisjonene ovenfor, eller et slikt anti-JNK-inhibitorsekvensantistoff og eventuelt en merket bindingspartner for antistoffet. Merket som derved er

5 inkorporert i antistoffet kan inkludere, men er ikke begrenset til, en kjemiluminescensenhet, enzymatisk enhet, fluorescensenhet, kolorimetrisk enhet eller radioaktiv enhet. Settet kan eventuelt ytterligere omfatte en forhåndsbestemt mengde av en rensset JNK-inhibitorsekvens som definert ovenfor eller et kimært peptid som definert ovenfor, til anvendelse som en diagnostisk standard, eller

10 kontroll i analysene for formålene ovenfor.

Dersom ikke annet er definert har alle tekniske og vitenskapelige uttrykk her den samme betydningen som vanligvis forstås av en fagmann på området. Selv om fremgangsmåter og materialer tilsvarende eller ekvivalente med de som er beskrevet her kan bli benyttet i utøvelsen av eller testingen av foreliggende oppfinnelse,

15 passende fremgangsmåter og materialer er beskrevet nedenfor. I tilfelle av konflikt vil foreliggende beskrivelse, inkludert definisjoner, styre. I tillegg er materialene, fremgangsmåtene og eksemplene kun illustrerende og er ikke ment å være begrensende. Andre trekk og fortrinn ved oppfinnelsen vil være åpenbare ut fra den følgende detaljerte beskrivelsen og kravene.

20

Beskrivelse av figurene

Figurene 1A-C er diagrammer som viser sammenstillinger av konserverte JBD-domeneregioner i de indikerte transkripsjonsfaktorene. JNK-inhibitorsekvenser benyttet her ble identifisert ved å utføre sekvenssammenstillinger. Resultatene av

25 denne sammenstillingen er eksempelmessig vist på figurene 1A-C. Figur 1A viser regionen med høyest homologi mellom JBD'ene for IB1, IB2, c-jun og ATF2. Panel B viser aminosyresekvensen til JBD'ene L-IB1(s) og L-IB1 av sammenligningsgrunner. Fult konserverte rester er indikert med asterisker, mens rester endret til Ala i GFP-JBD_{23Mut}-vektoren er indikert med åpne sirkler. Figur 1C

30 viser aminosyresekvensene for kimære proteiner som inkluderer en JNK-inhibitorsekvens og en trafikkeringssekvens. I eksemplet som er vist er trafikkeringssekvensen avledet fra det humane immunsviktvirus (HIV)-TAT-polyeptidet, og JNK-inhibitorsekvensen er avledet fra et IB1(s)-polyeptid. Human-, mus- og rotte-sekvenser er identiske i panelene B og C.

35

Figur 2 er et diagram som viser sekvenser for generiske TAT-IB-fusjonspeptider fra menneske, mus og rotte.

Figur 3 viser resultatene av inhiberingen av endogen JNK-aktivitet i HepG2-celler ved å benytte fusjonspeptider ifølge SEQ ID nr. 9 og 11 i en enkeltbrønn-tilnærming. Slik det fremgår på figur 3, spesielt på panel d på figur 3, så inhiberer D-TAT-IB1(s) ifølge SEQ ID nr. 11 (her forkortet som D-JNKI) effektivt JNK-aktivitet, til og med bedre enn L-TAT-IB1(s) ifølge SEQ ID nr. 9 (her forkortet L-JNKI).

Figur 4 viser resultatet av den cytotoxiske analysen med en kimær JNK-inhibitorsekvens ifølge SEQ ID nr. 11, også betegnet XG-102 (se eksempel 12). Slik det fremgår er ikke XG-102 (SEQ ID nr. 11) cytotoxisk for HFFs. HFFs ble sådd ut på 96-brønners vevskulturplater. Medium inneholdende DMSO (samme nivå som 5 μ M legemiddelet), eller XG-102 ved 1, 2 og 5 μ M ble tilsatt i 24 t. Neutral Red ble kort tilsatt, cellene ble fiksert, og deretter ble fargestoffet ekstrahert. Absorbans ble målt ved 540 nm. Ingen forskjell ble observert mellom DMSO og 1 μ M XG-102.

15

Figur 5 viser resultatene av plakk-reduksjonsanalysen utført for testing av aktivitet for en kimær JNK-inhibitorsekvens ifølge SEQ ID nr. 11, også betegnet XG-102 mot Varizella Zoster-virus (VZV) (se eksempel 12). Slik det fremgår er XG-102 (SEQ ID nr. 11) en sterk inhibitor av Varizella Zoster-virus (VZV), spesielt ved konsentrasjoner på 0,5 μ M og 1 μ M.

20

Figur 6 viser resultater av inhiberingen av Varizella Zoster-virus (VZV) i dyrkede, humane fibroblaster ved å benytte en kimær JNK-inhibitorsekvens ifølge SEQ ID nr. 11, også betegnet XG-102 (se eksempel 12). Slik det fremgår viser VZV en signifikant sensitivitet for XG-102 (SEQ ID nr. 11). VZV-replikasjon var normal i nærværet av den negative kontrollen (XG-100, Tat-peptidet alene). XG-102 (SEQ ID nr. 11) forhindret slik VZV-replikasjon allerede ved den laveste konsentrasjonen som ble testet på 0,25 μ M.

25

Figur 7 komparativt eksempel som viser aktiviteten til XG-102 (SEQ ID nr. 11) på cellerekuttering i lunge ved å benytte MPO i lungehomogenisering i behandlingen av kronisk obstruktiv pulmonal sykdom (COPD) ved å benytte en dyremodell med bleomycinindusert akutt lungeinflammasjon. Slik det fremgår ble ikke MPO signifikant indusert etter administrering av bleomycin. XG-102 (SEQ ID nr. 11) hadde slik kun liten effekt på MPO-nivåene i lungen.

30

35

Figur 8 sammenligningseksempel som viser aktiviteten av XG-102 (SEQ ID nr. 11) på TNF-nivåer i behandlingen av kronisk obstruktiv pulmonal sykdom

(COPD) ved å benytte en dyremodell med bleomycinindusert akutt lungefibrose. Når TNF-nivåer ble målt ble en trend mot reduksjon av TNF-nivået i BALF etter administrering av XG-102 (SEQ ID nr. 11) observert i BLM-modellen. TNF-nivåer er svært lave etter BLM.

5

Figur 9 sammenligningseksempel som viser aktiviteten til XG-102 (SEQ ID nr. 11) på cellerekuttering i bronkiealvøært lavage-rom i behandlingen av kronisk obstruktiv pulmonal sykdom (COPD) ved å benytte en dyremodell med bleomycinindusert akutt lungefibrose. Ved 0,1 mg/kg reduserer XG-102 (SEQ ID nr. 11) signifikant lymfocyttekutteringen og antallet totale celler rekruttert i det inflammatoriske stadiet kjennetegnet på dette tidspunktet ved lymfocyttekutteringen. Ved 0,1 mg/kg forsterker XG-102 (SEQ ID nr. 11) lymfocyttekutteringen eller antallet totale celler inn i det bronkiealvøære rommet (n=5 mus per gruppe, *, p<0,05, ** p<0,001).

15

Figur 10 sammenligningseksempel som beskriver resultatene av histologien i behandlingen av kronisk obstruktiv pulmonal sykdom (COPD) ved å benytte en dyremodell med bleomycinindusert akutt lungefibrose. Seksjoner på 3 µm med lunge ble farget med hematoxylin og eosin. Akkumulering av inflammatoriske celler, fibrotiske områder, tap av lungearkitektur ble observert 10 dager etter BLM-administrering. Slik det fremgår blir en minskning av disse parameterne observert etter administrering av XG-102 ved den lave dosen (0,001 mg/kg) men ikke med den høye dosen (0,1 mg/kg).

20

Figur 11 viser effektene av en behandling med XG-102 (SEQ ID nr. 11) på hjernenivåer av Aβ₁₋₄₀ og Aβ₁₋₄₂ bestemt med ELISA. Grafene representerer nivåene av Aβ₁₋₄₀ (venstre) og Aβ₁₋₄₂ (høyre) bestemt med ELISA i ulike hjernehomogenatfraksjoner med Triton-40 og Triton-42. Data er representert som scattered-dot-plot med individuelle verdier (svart) og gruppesnitt +/- SEM. Signifikante forskjeller er merket med asterisker (* p<0,05, ** p<0,01). Signifikante gruppeforskjeller ble observert kun i Triton X-100-fraksjon for Aβ₁₋₄₂.

30

Figur 12 viser effektene av en behandling med XG-102 (SEQ ID nr. 11) på nivåer av CSF- Aβ₁₋₄₀ og -Aβ₁₋₄₂ bestemt ved ELISA. Grafene representerer nivåene av Aβ₁₋₄₀ (venstre) og Aβ₁₋₄₂ (høyre) bestemt med ELISA i CSF. Data er representert som scattered-dot-plot med individuelle verdier (svart) og gruppesnitt +/- SEM. Signifikante forskjeller er merket med asterisker (* p<0,05, ** p<0,01). Behandling med XG-102 (SEQ ID nr. 11) i begge doseringer førte til en signifikant minskning av Aβ₁₋₄₀ og Aβ₁₋₄₂ i CSF.

35

Figur 13 viser behandlingseffektene på det Thioflavin-S-fargingsvisualiserte antallet plakk i hAPP-Tg-musene: Grafene representerer antallet Thioflavin-S-fargede plakk per mm² i cortex og hippocampus. XG-102 (SEQ ID nr. 11)-behandling reduserte antallet plakk negativt doseavhengig i hippocampus. Data er representert som gjennomsnitt + SEM. N=8 per gruppe. *...p<0,05, **p<0,01.

Figur 14 viser behandlingseffektene på det Thioflavin-S-visualiserte plakkområdet (%) i hAPP-Tg-musene: Grafene representerer plakkarealet (%) av Thioflavin-S-positive plakk i cortex og hippocampus. XG-102 (SEQ ID nr. 11) reduserte signifikant området oppnådd med plakk i hippocampus. Data er representert som +SEM. N=8 per gruppe.

Figur 15 sammenligningseksempel som beskriver resultatet av administreringen av XG-102 (SEQ ID nr. 11) på fastende blodglukosenivåer (absolutte og relative) i dyremodellen for diabetes type 2. Fastende blodglukose ble målt hver tredje dag inntil dag 68 og på regulær basis inntil terminering på dag 111 i gruppene A og C. Vi observerte en klar og signifikant (p<0,001) minskning av nivået for fastende blodglukose i de diabetiske db/db-musene behandlet med XG-102 (SEQ ID nr. 11) (10 mg/kg) sammenlignet med vehikkelkontroll. De fastende blodglukosenivåene hos musene behandlet med XG-102 (SEQ ID nr. 11) (10 mg/kg) nådde et lavt platå på omtrent 5 mmol/L. Denne effekten var synlig etter 14 dager med dosering og varte gjennom hele undersøkelsen, og slik gjennom hele utskyllingsperioden fra dag 21 til dag 111. I motsatt fall observerte vi ingen effekt med lav dose av XG-102 (SEQ ID nr. 11) (1 mg/kg) i løpet av 28 dager med dosering.

Figur 16 sammenligningseksempel som beskriver resultatene av administreringen av XG-102 (SEQ ID nr. 11) (10 mg/kg) på kroppsvekt i dyremodellen for diabetes type 2. Vi observerte en klar og signifikant (p<0,001) forhindring av kroppsvektøkning hos mus behandlet med XG-102 (SEQ ID nr. 11) (10 mg/kg) sammenlignet med vehikkelkontroll. Effekten var synlig fra dag 28 med dosering og vedvarte inntil termineringen på dag 111. I motsetning til dette observerte vi ingen effekt med lav dose av XG-102 (SEQ ID nr. 11) (1 mg/kg) på kroppsvekt i løpet av de 28 dagene med dosering.

Figur 17, 18 sammenligningseksempel som beskriver effekten av vehikkel eller XG-102 (SEQ ID nr. 11) (10 mg/kg) i dyremodellen for diabetes type 2 på 24 timers

mat- og vanninntak, og urin- og fecesproduksjon som målt i metabolske bur på studiedag 68 på figur 17 (g) og 18 (normalisert til g kroppsvekt). Vi observerte ingen signifikante effekter av XG-102 (SEQ ID nr. 11) (10 mg/kg) på noen av de målte parameterne sammenlignet med vehikkelkontroll selv om en trend mot en minskning av matinntak og urinproduksjon ble observert.

Figur 19, 20 sammenligningseksempel som beskriver effekten av vehikkel eller XG-102 (SEQ ID nr. 11) (10 mg/kg) i dyremodellen for diabetes type 2 som målt på dagene 57, 77 og 108 på plasmanivåer av insulin, MCP-1 og IL6 på figur 19, på plasmanivåer av tPAI-1, TNF og resistin på figur 20. Vi observerte ingen signifikante effekter med XG-102 (SEQ ID nr. 11) (10 mg/kg) på noen av de målte parameterne sammenlignet med vehikkelkontroll bortsett fra nivåene for plasmar resistin, som var signifikant høyere i XG-102 (SEQ ID nr. 11)-behandlede dyr på dagene 77 og 108.

15

Figur 21 viser effekten av vehikkel eller XG-102 (SEQ ID nr. 11) (10 mg/kg) i dyremodellen for diabetes type 2 på vevsvekt i epididymale, inguinale subkutane og retroperitoneale fettsamlinger. Vi observerte en signifikant minskning av epididymal ($p < 0,05$) og retroperitoneal ($p < 0,01$) fettmasse hos mus behandlet med XG-102 sammenlignet med vehikkelkontroll.

20

Figur 22 sammenligningseksempel som viser effekten av vehikkel eller XG-102 (SEQ ID nr. 11) (10 mg/kg) i dyremodellen for diabetes type 2 på vevsvekt av hjerne, milt og hjerte. Vi observerte ingen signifikante effekter av XG-102 (SEQ ID nr. 11) (10 mg/kg) på disse parameterne sammenlignet med vehikkelkontroll.

25

Figur 23 sammenligningseksempel som beskriver effekten av vehikkel eller XG-102 (SEQ ID nr. 11) (10 mg/kg) i dyremodellen for diabetes type 2 på vevsvekt av nyre og lever. Vi observerte en signifikant minskning av nyre ($p < 0,05$) og levermasse ($p < 0,01$) hos mus behandlet med XG-102 (SEQ ID nr. 11) sammenlignet med vehikkelkontroll.

30

Figur 24 primære dyrkede makrofager ble inkubert med XG-102 (SEQ ID nr. 11) og omfattende vasket. Tilstedeværelse av XG-102 (SEQ ID nr. 11) ble avslørt ved å benytte et spesifikt antistoff mot XG-102. XG-102 blir sterkt inkorporert inn i primære makrofager.

35

- 5 **Figur 25** Mus ble behandlet vis tre ulike administreringsruter (s.c., i.v., i.p.) med radiomerkede peptider med C¹⁴ (1 mg/ml). Dyr ble avlivet 72 timer etter injeksjon og prosessert for immunradiografi. Sagital-seksjoner ble eksponert og avslørte den fremherskende akkumuleringen av XG-102-peptider i leveren, milten og benmargen (XG-102 SEQ ID nr. 11).
- 10 **Figur 26** viser en immunfarging mot XG-102 (SEQ ID nr. 11) i leveren hos rotter injisert med 1 mg/kg XG-102 i.v. Dyr ble avlivet 24 timer etter injeksjon. Avsløring ble utført ved å benytte DAB-substrat. Denne figuren viser igjen den tydelige akkumuleringen av XG-102 i leveren, og spesielt i Kupffer-cellene (makrofager).
- 15 **Figur 27** viser inhiberingen av cytokin- og kjemokinfrigjøring i to cellelinjer. XG-102 (SEQ ID nr. 11) inhiberer cytokinfrigjøring i både myeloide og lymfoide cellelinjer, reduserer LPS-indusert TNFa-, IL-6- og MCP-1-frigjøring i THP-1-celler (panel A-C) og PMA- og ionomycinindusert IFNg-, IL-6- og IL-2-produksjon i Jurkat-celler (panel D-F). Kontrollen (XG-101) er mindre effektiv på grunn av sin mindre stabilitet.
- 20 **Figur 28** viser inhiberingen av cytokinfrigjøring i primære celler. XG-102 (SEQ ID nr. 11) inhiberer også cytokinfrigjøring i primære lymfoide eller myeloide celler, reduserer LPS-indusert TNFa-, IL-6- og Rantes-frigjøring i murine makrofager (panel A-C) og PMA- og ionomycinindusert TNFa- og IFNg-produksjon i murine T-celler (panel D-E). Effekter forekommer ved ikke-cytotoksiske konsentrasjoner av XG-102 (panel F).
- 25 **Figur 29** viser IB1-cDNA-sekvensen fra rotte og dens predikerte aminosyresekvens (SEQ ID nr. 102)
- 30 **Figur 30** viser IB1-proteinsekvensen fra rotte kodet for av ekson-intron-grensen i rIB1-gen-speleisedonoren (SEQ ID nr. 103)
- Figur 31** viser IB1-proteinsekvensen fra Homo sapiens (SEQ ID nr. 104)
- 35 **Figur 32** viser IB1-cDNA-sekvensen fra Homo sapiens (SEQ ID nr. 105)

Eksempler

Eksempel 1: Identifisering av JNK-inhibitorsekvenser

- 5 Aminosyresekvenser som er viktige for effektiv interaksjon med JNK ble
identifisert ved sekvenssammenstillinger mellom kjente JNK-bindingsdomener
JBD'er. En sekvenssammenligning mellom JBD'er fra IB1 (SEQ ID nr. 13), IB2
(SEQ ID nr. 14), c-jun (SEQ ID nr. 15) og ATF2 (SEQ ID nr. 16) definerte en svakt
10 konservert sekvens på 8 aminosyrer (se figur 1A). Fordi JBD'ene i IB1 og IB2 er
omtrent 100 ganger så effektive som s-Jun og ATF2 i binding av JNK (Dickens et
al., Science 277;693 (1997)) ble det resonnert at konserverte rester mellom IB1 og
IB2 må være viktige for å gi maksimal binding. Sammenligningen mellom JBD'ene
i IB1 og IB2 definerer to blokker på syv og tre aminosyrer som er svært konserverte
mellom de to sekvensene.
- 15 Disse to blokkene er inneholdt i en peptidsekvens på 19 aminosyrer i L-IB1(s) (SEQ
ID nr. 1) og er også vist for sammenligningsgrunner i en 23aminosyrer lang
peptidsekvens avledet fra IB1 (SEQ ID nr. 17). Disse sekvensene er vist på figur
1B, streker i L-IB1-sekvensene indikerer et hull i sekvensen for å sammenstille de
konserverte restene med L-IB1(s).

20

Eksempel 2: Fremstilling av JNK-inhibitorfusjonsproteiner

- JNK-inhibitorfusjonsproteiner ifølge SEQ ID nr. 9 ble syntetisert ved kovalent
kobling av den C-terminale enden av SEQ ID nr. 1 til et N-terminalt 10
aminosyrer langt bærerpeptid utledet fra HIV-TAT4g-57 (Vives et al., J. Biol.
25 Chem., 272:16010 (1997)) ifølge SEQ ID nr. 5 via en linker bestående av to
prolinrester. Denne linkeren ble benyttet for å muliggjøre maksimal fleksibilitet og
forhindre uønskede sekundærstrukturendringer. De basiske konstruksjonene ble
også fremstilt og henholdsvis betegnet L-IB1(s) (SEQ ID nr. 1) og L-TAT (SEQ ID
nr. 5).
- 30 Kun D-retro-inverse peptider ifølge SEQ ID nr. 1 ble syntetisert tilsvarende. De
basiske konstruksjonene ble også fremstilt og henholdsvis betegnet D-IB1(s) (SEQ
ID nr. 2) og D-TAT (SEQ ID nr. 6).
- Alle D- og L-fusjonspeptider ifølge SEQ ID nr. 9, 10, 11 og 12 ble produsert med
klassisk Fmock-syntese og ytterligere analysert ved massespektrometri. De ble til
35 slutt rensert med HPLC. For å bestemme effekten av prolin-linkeren ble to typer
TAT-peptid produsert, ett med og ett uten to proliner. Addisjonen av de to prolinene
så ikke ut til å modifisere inntrengningen eller lokaliseringen av TAT-peptidet inne

i celler. Generiske peptider som viser de konserverte aminosyrerestene er vist på figur 2.

Eksempel 3: Inhibering av celledød ved JBD19

5 Effektene av den 19 aminosyrer lange JBD-sekvensen i IB1(s) på biologisk JNK-aktivitet ble studert. Den 19 aminosyrer lange sekvensen ble koblet N-terminalt til grønt fluorescerende protein (GFP JBD19-konstruksjon) og effekten av denne konstruksjonen på bukspyttkjertelbetacelle-apoptose induisert ved IL1 ble evaluert. Dette apoptose moduset var tidligere vist å bli blokkert ved transfeksjon med JBD₁₋₂₈₀ mens spesifikke inhibitorer av ERK1/2 eller p38 som kjent på fagområdet beskyttet ikke.

15 Oligonukleotider tilsvarende JBD19 og omfattende en konservert sekvens på 19 aminosyrer i tillegg til muterte og fullt konserverte regioner ble syntetisert og retningsbestemt satt inn i EcoRI- og SallI-seter i pEGFP-1-vektoren som koder for grønt fluorescerende protein (GFP) (fra Clontech). Insulinproduserende TC-3-celler ble dyrket i RPMI-1640-medium tilsatt 10 % føtalt kalveserum, 100 µg/ml streptomycin, 100 enheter/ml penicillin og 2 mM glutamin. Insulinproduserende TC-3-celler ble transfektert med de indikerte vektorene og IL1 (10 ng/ml) ble tilsatt cellekulturmediet. Antallet apoptotiske celler ble talt ved 48 timer etter tilsetningen av IL-1 ved å benytte et invertert fluorescensmikroskop. Apoptotiske celler ble skilt fra normale celler ved den karakteristiske «utboblingen» av cytoplasma og ble talt etter to dager.

25 GFP er grønt fluorescerende protein-ekspressjonsvektor benyttet som kontroll, JBD19 er vektoren som uttrykker en kimær GFP koblet til den 19 aminosyrer lange sekvensen avledet fra JBD fra IB1, JBD19Mut er den samme vektoren som GFP-JBD19 men med JBD mutert på fire konserverte rester vist som figur 1B, og JBD₁₋₂₈₀ er GFP-vektoren koblet til hele JBD (aminosyre 1 – 280). Den GFP-JBD19-uttrykkende konstruksjonen forhindret IL-1-indusert bukspyttkjertelcelleapoptose like effektivt som hele JBD₁₋₂₈₀.

30

Eksempel 4: Cellulær import av TAT-IB1(s)-peptider

35 Evnen til de L- og D-enantiomere formene av TAT- og TAT-IB1(s)-peptidene («TAT-IB-peptider») til å trenge inn i celler ble evaluert. L-TAT, D-TAT, L-TAT-IB1(s) og D-TAT-IB1(s) peptider (henholdsvis SEQ ID nr. 5, 6, 9 og 12) ble merket med N-terminal addisjon av en glysinrest konjugert til fluorescein. Merkede peptider (1 µM) ble tilsatt til TC-3-cellekulturer, som ble opprettholdt som beskrevet i eksempel 3. Ved forhåndsbestemte tider ble celler vasket med PBS og fiksert i fem minutter i iskald metanol-aceton (1:1) før de ble undersøkt under et fluorescensmikroskop. Fluorescein-merket BSA (1 µM, 12 mol/mol BSA) ble

benyttet som kontroll. Resultater viste at alle de ovenfor fluoresceinmerkede peptidene effektivt og raskt (på mindre enn fem minutter) hadde trengt inn i cellene etter tilsetning i kulturmediet. I motsatt fall trengte ikke fluoresceinmerket bovint serumalbumin (1 μ M BSA, 12 mol fluorescein/mol BSA) inn i cellene.

- 5 En tidsforløpstudie indikerte at intensiteten til fluorescenssignalet for de L-enantiomere peptidene minsket med 70 % etter en periode på 24 timer. Lite til ikke noe signal var til stede ved 48 timer. I motsetning var D-TAT og D-TAT-IB1(s) ekstremt stabile inne i cellene.

10 Fluorescenssignaler fra disse kun D-retro-invers-peptidene var fremdeles ganske sterke 1 uke senere, og signalet var kun litt svakere ved 2 uker etter behandling.

Eksempel 5: *In vitro*-inhibering av c-JUN-, ATF2- og Elk1-fosforylering

Effektene av peptidene på JNK-mediert fosforylering av deres måltranskripsjonsfaktorer ble undersøkt *in vitro*. Rekombinant og ikke-aktivert JNK1, 15 JNK2 og JNK3 ble produsert ved å benytte et Transcription and Translation—kanin-reticulocyt-lysate sett (Promega) og benyttet i fastfase kinaseanalyser med c-jun, ATF2 og Elk1, enten alene eller fusjonert med glutation-S-transferase (GST), som substrater. Doseringsstudier ble utført der L-TAT- eller L-TAT-IB1(s)-peptider (0-25 μ M) ble blandet med de rekombinante JNK1-, JNK2- eller JNK3- 20 kinasene i reaksjonsbuffer (20 mM Tris-acetat, 1 mM EGTA, 10 mM p-nitrofenylfosfat (pNPP), 5 mM natriumpyrofosfat, 10 mM p-glyserofosfat, 1 mM ditiotritol) i 20 minutter. Kinasereaksjonene ble deretter satt i gang ved tilsetningen av 10 mM MgCl₂ og 5 pCi³³P-dATP og 1 μ g med enten GST-Jun (aa 1-89), GST-ATF2 (aa 1-96) eller GST-ELK1 (aa 307-428). GST-fusjonsproteiner ble kjøpt fra Stratagene 25 (La Jolla, CA).

Ti μ l glutation-agarosekuler ble også tilsatt til blandingen. Reaksjonsproduktene ble deretter separert ved SDS-PAGE på en denaturerende 10 % polyakrylamidgel. Geler ble tørket og deretter eksponert for røntgenfilmer (Kodak). Nesten komplett 30 inhibering av c-Jun-, ATF2- og Elk1-fosforylering ved JNK ble observert ved TAT-IB(s)-peptid-doser så lave som 2,5 μ M. Likevel var et markert unntak fraværet av TAT-IB(s)-inhibering av JNK3-fosforylering av Elk1. Totalt sett viste TAT-IB1(s)-peptidet overlegne effekter i inhibering av JNK-familie-fosforylering av deres måltranskripsjonsfaktorer. Evnen til D-TAT-, D-TAT-IB1(s)- og L-TAT-IB1(s)-peptider (0-250 μ M doseringsstudie) i å inhibere GST-Jun (aa 1-73)-fosforylering 35 ved rekombinant JNK1, JNK2 og JNK3 ble analysert som ovenfor. Totalt sett økte D-TAT-IB1(s)-peptid JNK-mediert fosforylering av c-Jun, men ved nivåer omtrent 10-20 ganger mindre effektivt enn L-TAT-IB1(s).

Eksempel 6: Inhibering av c-JUN-fosforylering ved aktiverte JNK'er

Effektene av L-TAT- eller L-TAT-IB1(s)-peptidene som definert her på JNK'er aktivert ved stressende stimuli ble evaluert ved å benytte GDT-Jun for å trekke ned JNK'er fra UV-lys-bestrålte HeLa-celler eller IL-1-behandlede PC-celler. PTC-celler ble dyrket som beskrevet ovenfor. HeLa-celler ble dyrket i DMEM-medium tilsatt 10 % føtalt kalveserum, 100 µg/ml streptomycin, 100 enheter/ml Penicillin og 2 mM glutamin. Én time før de ble benyttet til celle-ekstraktklargjøring ble PTC-celler aktivert med IL-1 som beskrevet ovenfor, mens HeLa-celler ble aktivert med UV-lys (20 J/m²). Celle-ekstrakter ble klargjort fra kontroll, UV-lys-bestrålte HeLa-celler og IL-1-behandlede TC3-celler ved å skrape cellekulturene i lysisbuffer (20 mM Tris-acetat, 1 mM EGTA, 1 % Triton X-100, 10 mM p-nitrofenyl-fosfat, 5 mM natriumpyrofosfat, 10 mM p-glyserofosfat, 1 mM ditiotritol). Smuss ble fjernet ved sentrifugering i fem minutter ved 15 000 rpm i en SS-34 Beckman-rotor. Ett hundre µg ekstrakter ble inkubert i én time ved romtemperatur med ett µg GST-Jun (aminosyrene 1-89) og 10 µl glutation-agarosekuler (Sigma). Etter fire vaskinger med skrapebufferen ble kulene resuspendert i den samme bufferen tilsatt L-TAT- eller L-TAT-IB1(s)-peptider (25 µM) i 20 minutter. Kinasereaksjoner ble deretter satt i gang ved tilsetning av 10 mM MgCl₂, og 5 pCi³³P-gamma-dATP og inkubert i 30 minutter ved 30 °C.

Reaksjonsprodukter ble deretter separert ved SDS-PAGE på en denaturerende 10 % polyakrylamidgel. Geler ble tørket og deretter eksponert overfor røntgenfilmer (Kodak). TAT-IB(s)-peptidene forhindret effektivt fosforylering av c-Jun ved aktiverte JNK'er i disse eksperimentene.

Eksempel 7: In vivo-inhibering av c-JUN-fosforylering ved TAT-IB(s)-peptider som definert her

For å bestemme hvorvidt de cellepermeable peptidene som definert her kunne blokkere JNK-signalisering in vivo benyttet vi et heterologt GAL4-sytem. HeLa-celler dyrket som beskrevet ovenfor ble ko-transfektet med 5xGAL-LUC-reportervektoren sammen med GAL-Jun-ekspresjonskonstruksjonen (Stratagene) omfattende aktiveringsdomenet til c-Jun (aminosyrene 1-89) koblet til GAL4-DNA-bindingsdomenet. Aktivering av JNK ble oppnådd ved ko-transfeksjon av vektorer som uttrykker de umiddelbart oppstrøms kinasene MKK4 og MKK7 (se Whitmarsh et al., Science 285:1573 (1999)). Kort forklart ble 3x10⁵ celler transfektet med plasmidene i 3,5 cm skåler ved å benytte DOTAP (Boehringer Mannheim) ved å følge instruksjonene fra produsenten. For eksperimenter som involverer GAL-Jun ble 20 ng av plasmidet transfektet med 1 µg av reporterplasmidet pFR-Luc (Stratagene) og 0,5 µg av enten MKK4- eller MKK7-uttrykkende plasmider. Tre timer etter transfeksjon ble cellemedium byttet og TAT- og TAT-IB1(s)-peptider (1 µM) ble tilsatt. Luciferaseaktivitetene ble målt 16 timer senere ved å benytte «Dual

Reporter System» fra Promega etter normalisering til protein-innhold. Tilsetning av TAT-IB1(s)-peptid blokkerte aktivering av c-Jun etter MKK4- og MKK7-mediert aktivering av JNK. Fordi HeLa-celler uttrykker JNK1- og JNK2-isoformer men ikke JNK3 transfekterte vi celler med JNK3. Igjen inhiberte TAT-IB(s)-peptidet JNK2-mediert aktivering av c-Jun.

Eksempel 8: syntese av kun-D-retro-inverse IB(s)-peptider og varianter derav

Peptider ifølge oppfinnelsen kan være kun-D-aminosyrepeptider syntetisert i revers for å forhindre naturlig proteolyse (dvs., kun-D-retro-invers-peptider). Et kun-D-retro-invers-peptid ifølge oppfinnelsen vil tilveiebringe et peptid med funksjonelle egenskaper tilsvarende det native peptidet, der sidegruppene på aminosyrene i peptidet vil tilsvare de for det native peptidet, men vil ha en proteaseresistent grunnstruktur.

Retro-invers-peptider ifølge oppfinnelsen er analoger som er syntetisert ved å benytte D-aminosyrer ved å feste aminosyrene i en peptidkjede slik at sekvensen av aminosyrer i retro-invers-peptidanalogen er eksakt motsatt av den i det valgte peptidet som tjener som modell. For å illustrere, dersom det naturlig forekommende TAT-proteinet (dannet av L-aminosyrer) har sekvensen GRKKRRQRRR (SEQ ID nr. 5) så vil retro-invers-peptidanalogen av dette peptidet (dannet av D-aminosyrer) ha sekvensen RRRQRRKKRG (SEQ ID nr. 6). Prosedyrene for syntetisering av en kjede av D-aminosyrer for å danne retro-invers-peptidene er kjent på fagområdet (se f.eks. Jameson et al., Nature, 368, 744-746 (1994), Brady et al., Natur 368, 692-693 (1994), Guichard et al., J. Med. Chem., 39, 2030-2039 (1996)). Spesifikt ble retro-peptidene ifølge SEQ ID nr. 2, 4, 6, 8, 11-12, 18, 20, 22 og 25-26 produsert ved klassisk Fmoc-syntese og ytterligere analysert med massespektrometri. De ble til slutt rensert med HPLC.

Fordi et iboende problem med native peptider er degradering ved naturlige proteaser og iboende immunogenisitet så vil de heterobivalente eller heteromultivalente forbindelsene ifølge denne oppfinnelsen bli fremstilt for å inkludere «retro-invers-isomeren» av det ønskede peptidet. Beskyttelse av peptidet fra naturlig proteolyse bør derfor øke effektiviteten til den spesifikke heterobivalente eller heteromultivalente forbindelsen, både ved å forlenge halveringstiden og minske omfanget av immunresponsen som er fokusert på å aktivt ødelegge peptidene.

Eksempel 9: Biologisk langtids-aktivitet for kun-D-retro-invers IB(s)-peptider og varianter derav

Biologisk langtidsaktivitet er predikert for det D-TAT-IB(s)-retro-invers-inneholdende peptid-heterokonjugatet (se kimær sekvens ovenfor) sammenlignet

med den native L-aminosyreanalogen på grunn av beskyttelse av D-TAT-IB(s)-peptidet fra degradering ved native proteaser, som vist i eksempel 5.

5 Inhibering av IL-1-induserte bukspyttkjertel beta-celledød ved D-TAT-IB1(s)-peptidet ble analysert. YC-3-celler ble inkubert som beskrevet ovenfor i 30 minutter med én enkelt tilsetning av de indikerte peptidene (1 μ M), og deretter ble IL-1 (10 ng/ml) tilsatt.

10 Apoptotiske celler ble deretter talt etter to dager med inkubering med IL-1 ved anvendelse av propidiumjodid og Hoechst33342-nukleær farging. Et minimum av 1 000 celler ble talt for hvert eksperiment. Standardfeil for gjennomsnitt (SEM) er indikert, n=5. D-TAT-IB1-peptidet minsket IL-1-indusert apoptose til et tilsvarende omfang som L-TAT-IB-peptider.

15 Langtidsinhibering av IL-1P-indusert celledød ved D-TAT-IB1-peptidet ble også analysert. TC-3-celler ble inkubert i 30 minutter med én enkelt tilsetning av de indikerte peptidene (1 μ M), og deretter ble IL-1 (10 ng/ml) tilsatt, etterfulgt av tilsetning av cytokinet hver andre dag. Apoptotiske celler ble deretter talt etter 15 dager med inkubering med IL-1 ved anvendelse av propidium-jodid og Hoechst 33342-nukleær farging. Det bemerkes at én enkelt tilsetning av TAT-IB1-peptidet ikke gir langtidsbeskyttelse. Et minimum av 1 000 celler ble talt for hvert eksperiment. Som et resultat var D-TAT-IB1(s), men ikke L-TAT-IB1(s), i stand til
20 å gi langtidsbeskyttelse (15 dager).

Eksempel 10: Undertrykkelse av JNK-transkripsjonsfaktorer ved L-TAT-IB1(s)-peptidet som benyttet ifølge foreliggende oppfinnelse

25 Gelforsinkingsanalyser ble utført med en AP-1-dobbeltmerket probe (5'-CGC TTG ATG AGT CAG CCG GAA-3' (SEQ ID nr. 101)). HeLa-cellenukleær-ekstrakter som var behandlet eller ikke med 5 ng/ml TNF- α , som indikert. TAT- og L-TAT-IB1(s)-peptider som benyttet ifølge foreliggende oppfinnelse ble tilsatt 30 minutter før TNF-alfa. Kun den delen av gelen med det spesifikke AP-1-DNA-komplekset (som vist ved konkurranse-eksperimenter med ikke-merkede spesifikke og ikke-30 spesifikke konkurrenter) er vist.

L-TAT-IB1(s)-peptider som benyttet ifølge foreliggende oppfinnelse minsker dannelsen av AP-1-DNA-komplekset i nærværet av TNF-alfa.

Eksempel 11: Inhibering av endogen JNK-aktivitet i HepG2-celler ved å benytte en tilnærming med alt i én brønn (se figur 3)

35 HepG2-celler ble sådd ut ved 3 000 celler/brønn dagen før eksperimentet. Deretter ble økende konsentrasjoner av enten interleukin-1 (IL-1beta-v) eller tumornekrosefaktor (TNFalfa (●)) (a) tilsatt for å aktivere JNK i 30 minutter. Celler

ble lysert i 20 mM Hepes, 0,5 % Tween pH 7,4 og prosessert for alphascreen JNK. (b) Z' for JNK-aktiviteten indisert med 10 ng/ml IL-1 og målt i 384 brønner/plate (n=96). (c) inhibering av endogen IL-1beta-indusert JNK-aktivitet med kjemiske JNK-inhibitorer (staurosporin (°) og SP600125 (●)). (d) Effekt av peptidinhibitorer L-TAT-IB1(s) ifølge SEQ ID nr. 9 (her forkortet som L-JNKi (v)) og D-TAT-IB1(s) ifølge SEQ ID nr. 11 (her forkortet D-JNK1 (♦)) og JBD'er (●) (tilsvarende L-JNK1 uten TAT-sekvensen)) på IL-1-avhengig JNK-aktivitet. Alle paneler er representative for tre uavhengige eksperimenter (n=3).

Fremgangsmåter: Alfascreen-kinaseanalyse

- 10 Prinsipp: AlphaScreen er en ikke-radioaktiv, kulebasert teknologi som benyttes for å studere biomolekylære interaksjoner i et mikroplateformat. Akronymet ALPHA står for Amplified Luminescence Proximity Homogenous Assay (forsterket luminescens-proksimitetshomogen analyse) Den involverer en biologisk interaksjon som bringer en "donor"- og en «akseptor»-kule tett på hverandre, og dertter virker
- 15 en kaskade med kjemiske reaksjoner for å produsere et forsterket signal. Ved lasereksitasjon ved 680 nm konverterer et fotosensitivt middel (ftalocyanin) i donorkulen omkringliggende oksygen til en eksitert singlett-tilstand. Innenfor sin halveringstid på 4 µsek kan singlett-oksygenmolekylet diffusere opp til 200 nm i
- 20 løsning og dersom en akseptorkule er innenfor denne vastanden reagerer singlett-oksygenet med et tioksenderivat på akseptorkulen, og genererer kjemiluminescens ved 370 nm som ytterligere aktiverer fluoroforer inneholdt i den samme akseptorkulen. De eksiterte fluoroforene sender deretter ut lys ved 520-620 nm. I fraværet av en akseptorkule faller singlett-oksygen tilbake til grunntilstanden og ikke noe signal blir produsert.
- 25 Kinasereagenser (B-GST-cJun, anti-P-cJun-antistoff og aktiv JNK3) ble først fortynnet i kinasebuffer (20 mM Tris-HCl pH 7,6, 10 mM MgCl₂, 1 mM DTT, 100 µM Na₃VO₄, 0,01 % Tween-20) og tilsatt brønner (15 µl). Reaksjonene ble deretter inkubert i nærvær av 10 µM ATP i 1 time ved 23 °C. Påvisning ble utført ved en tilsetning av 10 µl med kuleblanding (Protein-A-akseptor 20 µg/ml og streptavidin-
- 30 donor 20 µg/ml) fortynnet i påvisningsbuffer (20 mM Tris-HCl, pH 7,4, 20 mM NaCl, 80 mM EDTA, 0,3 % BSA) etterfulgt av en annen én times inkubering ved 23 °C i mørke. For målinger av JNK-endogen aktivitet ble kinaseanalyser utført som beskrevet ovenfor bortsett fra at aktiv JNK3 ble erstattet med cellelysater og reaksjonskinasekomponenter ble tilsatt etter cellelysis. B-GST-cjun og P-cjun-antistoff ble benyttet ved de samme konsentrasjonene mens ATP ble benyttet ved 50
- 35 µM i stedet for 10 µM. AlphaScreen-signal ble analysert direkte på Fusion- eller EnVision-apparatene.

Eksempel 12: Bestemmelse av aktiviteten til kun-D-retro-invers-IB(s)-peptider og varianter derav i behandlingen av virusinfeksjoner – Varicella zoster-virus (VZV)

Bestemmelse av aktiviteten til IB(s)-peptidene og kun-D-retro-invers-(IB(s)-peptidene som benyttet ifølge foreliggende oppfinnelse ble testet ved å benytte JNK-inhibitorpeptidet XG-102 (SEQ ID nr. 11) som testforbindelse i dyrkede vertsceller (humane forhudfibroblaster (HFF)). Virus er obligate, intracellulære parasitter som krever et funksjonelt cellemiljø for å fullføre deres livssyklus, og døende celler understøtter ikke deres virusreplikasjon. I tillegg kan inhibitorer av cellefunksjoner være toksiske for celler, noe som ikke-spesifikt kan hindre virusvekst. Slik kan syke og døende vertsceller oppvise ikke-spesifikt reduserte virustiter. Fordi dette kan forfalske resultatene ble en cyto toksisitetsanalyse utført først, for å bestemme toleransen til de dyrkede cellene for testforbindelsen. Deretter ble en plakkreduksjonsanalyse utført og deretter ble aktiviteten til JNK-inhibitorpeptidet XG-102 (SEQ ID nr. 11) testet med hensyn på Varicella zoster.virus (VZV) i infiserte celler.

A) Bestemmelse av celletoksisiteten til kun-D-retro-invers-IB(s)-peptider:

For bestemmelse av toksisitet ble dyrkede celler (humane forhudfibroblaster (HFF)) sådd ut i 96-brønners vevskulturplater. Medium inneholdende DMSO (samme nivå som 5 μ M XG-102 (SEQ ID nr. 11)), eller XG-102 (SEQ ID nr. 11) ble tilsatt ved flere konsentrasjoner (1, 2 og 5 μ M) i 24 timer. Deretter ble en Neutral-Red-analyse utført. Neutral-Red-kolorimetriske analyser for celletoksisitetsanalyser (i sett på 6 replikater) ble benyttet for å sette den maksimale dosen for påfølgende virkningsevne-analyser (som utført i Taylor et al., 2004, J. Virology, 78:2853-2862). Levende celler absorberer Neutral Red og dermed er nivået av absorbans et kvantitativt mål på cellelevedyktighet og antall. Opptak av Neutral Red er direkte proporsjonalt med antallet celler og gjenspeiler også normal endocytose. Derfor ble en kort puls med Neutral Red tilsatt mediet ved 0 og 24 timer. Etter fiksering og ekstrahering ble fargestoff tilsatt og mengden fargestoff i hver prøve ble målt på en ELISA-plateavleser ved 540 nm (se figur 4). Ingen cytotoksisitet ble observert med noen mengde XG-102 (SEQ ID nr. 11), og cellevekst var ikke begrenset sammenlignet med DMSO-fortynningsmiddelet alene (kontroll). Slik hadde ikke standardkonsentrasjonen på 1 μ M noen synlige effekter på HFF-celler, og høyere doser vil også bli godt tolerert.

B) Plakkreduksjonsanalyse for å evaluere antiviruseffektene av XG-102 (SEQ ID nr. 11) mot Varicella zoster-virus (VZV).

For å bestemme hvorvidt XG-102 (SEQ ID nr. 11) hadde en doseavhengig antiviruseffekt ble en mengde konsentrasjoner rundt standarden på 1 μ M testet. I denne plakkreduksjonsanalysen ble konfluente humane forhudfibroblaster (HFF) i 24-brønners plater inokulert med VZV-infiserte HFF'er ved et forhold på 1:100

(infeksjonsmultiplisitet $MOI=0,01$) og adsorbent på cellene i 2 timer. Overskuddet av virus ble vasket vekk, og medium inneholdende 0 (kun DMSO), 0,5, 1 eller 2 μM XG-102 (SEQ ID nr. 11) ble testet. Én prøve ble tatt på dette tidspunktet for å måle utgangsnivået for infeksjon, der hver brønn inneholdt omtrent 150 pfu. Etter 24 timer ble duplikate brønner trypsinert, og deretter ble celleduspensjonene titrert på MeWo-cellemonolag i triplikat for å bestemme antallet VZV-infiserte celler i hver prøve. Under ubegrenset vekst øker VZV vanligvis 10 ganger i løpet av 1 dag fordi det formeres ved spredning fra celle til celle. Det var dette som ble observert i kulturene behandlet med kun DMSO, noe som ga 1200 +/- 430 pfu (figur 5). Resultatene av bestemmelsen var som følger:

XG-102 (SEQ ID nr. 11)	Spredning av VZV (pfu) +/- SD
0 μM	1233 +/- 432
0,5 μM	260 +/- 53
1,0 μM	212 +/- 48
2,0 μM	312 +/- 79

XG-102 (SEQ ID nr. 11) hadde slik en sterk antiviruseffekt ved alle konsentrasjoner som ble testet, med VZV-utbytter på nær 200-300 pfu. Ved å benytte grafen av disse resultatene for å interpolere EC_{50} ble det beregnet at omtrent 0,3 μM XG-102 (SEQ ID nr. 11) fikk VZV-utbytte til å synke med 50 %.

Fra celledoksisitets- og virkningsevnedataene ble en preliminær selektiv indeks (Tox/EC_{50}) på 5,0 $\mu\text{M}/0,3 \mu\text{M}$ beregnet, noe som gir en verdi på omtrent 17, der den faktiske SI er antatt å være enda høyere fordi konsentrasjonen av XG-102 (SEQ ID nr. 11) som ville drepe 50 % av cellene ikke ble tilnærmet.

C) Målinger av Varicella zoster-virus (VZV)-replikasjon i humane forhudfibroblaster (HFF) med XG-102 (SEQ ID nr. 11).

For å bestemme den minimale, effektive dosen av XG-102 som forhindrer Varicella zoster-virus (VZV)-replikasjon i humane forhudfibroblaster (HFF) med XG-102 (SEQ ID nr. 11) ble konfluente monolag av HFF'er inokulert med VZV-BAC-Luc-stamme i 2 timer, deretter behandlet i 24 timer med XG-102 (SEQ ID nr. 11) ved konsentrasjoner på 0,25, 0,5 eller 1,0 μM eller med negativ kontroll (XG-100, 1,0 μM). Virusutbytte ble målt ved luciferasanalyse. Prøver i triplikat og

gjennomsnittlig luminescens er vist, feilsøyler representerer standardavviket av snittet.

Som et resultat var VZV-replikasjon normal i nærværet av den negative kontrollen (Tat-peptidet alene). XG-102 (SEQ ID nr. 11) forhindret VZV-replikasjon ved den laveste konsentrasjonen som ble testet, 0,25 µM. Den minimale, effektive dosen kunne ikke bli bestemt i dette eksperimentet. Mens det fremdeles ikke er kjent hvorfor VZV er avhengig av JNK-aktivitet under infeksjon så ser det ut til å være et avgjørende krav for dette enzymet. En lav konsentrasjon (0,25 µM) med XG-102 (SEQ ID nr. 11) er slik tilstrekkelig for fullstendig å blokkere VZV-spredning i kultur. Én mulig forklaring på denne effekten er at denne mengden med XG-102 (SEQ ID nr. 11) binder til alle JNK-molekylene i de infiserte cellene. Alternativt kan 0,25 µM XG-102 (SEQ ID nr. 11) redusere JNK-aktivitet til under et grensenivå som er optimalt for VZV-replikasjon. Resultatene av dette eksperimentet er oppsummert på figur 6.

15

Sammenligningseksempel 13: Bestemmelse av aktiviteten til kun-D-retro-invers-IB(s)-peptider og varianter derav i behandlingen av kronisk obstruktiv pulmonal sykdom (COPD)

For å bestemme aktiviteten til det eksemplarisk all-D-retro-invers-IB(s)-peptidet XG-102 (SEQ ID nr. 11) i behandlingen av kronisk obstruktiv pulmonal sykdom (COPD) er XG-102 (SEQ ID nr. 11) benyttet i en dyremodell for bleomycin-indusert akutt lungeinflammasjon og fibrose. Protokollen for bleomycin-indusert inflammasjon og fibrose har tidligere blitt beskrevet i litteraturen. Målet med eksperimentet var å undersøke effekten av XG-102 (SEQ ID nr. 11) ved subkutan (s.c.) rute på nøytrofilrekruttering i bronkoalveolær skylling (BAL) og lunge i bleomycin-indusert inflammasjon og fibrose:

20

25

- på dag 1 etter en enkelt administrering av bleomycin (10 mg/kg)
- og på dag 10 med utviklingen av fibrose.

30

1) Fremgangsmåte og eksperimentell tilnærming

Testforbindelsen XG-102 (SEQ ID nr. 11) ved to doser og vehikkelkontroll ble gitt s.c. med en enkelt intranasal administrering av bleomycin og mus ble analysert etter 1 og 10 dager. Dyrene som ble benyttet i modellen var 10 C57BL/6-mus (8 uker gamle) per gruppe. De eksperimentelle gruppene inkluderte vehikkel, 0,001 mg/kg XG-102 (SEQ ID nr. 11) og 0,1 mg/kg XG-102 (SEQ ID nr. 11), og behandlingen besto i gjentatt subkutan administrering av XG-102 (SEQ ID nr. 11) før bleomycin-administrering hver tredje dag. Akutt lungeinflammasjon ved 24 timer ble overvåket

35

ved BAL-skylling, cytologi, celledtelling og lunge-myeloperoksidaseaktivitet. Effekten av forbindelsen ble sammenlignet med vehikkel-kontroller. Lungefibrose ble undersøkt histologisk ved å benytte hematoxylin- og eosin-farging på dag 10 etter den single dosen med bleomycin.

5

1.1) Bleomycinadministrering

Bleomycinsulfat i saltløsning (10 mg/kg kroppsvekt) fra Bellon Laboratories (Mountrouge, Frankrike) eller saltløsning ble gitt gjennom luftveiene ved nasal instillasjon i et volum på 40 µl under lett ketamin-xylasin-anestesi. Gruppene for bleomycin-administrering for både bleomycin-indusert inflammasjon og fibrose inkluderte: Vehikkel, 0,001 mg/kg XG-102 (SEQ ID nr. 11) og 0,1 mg/kg XG-102 (SEQ ID nr. 11). Ruten for bleomycin-indusert inflammasjon var subkutan (s.c.), og administrering foregikk ved en enkelt dose. Ruten for bleomycin-indusert fibrose var subkutan (s.c.), og administrering foregikk 3 ganger på 10 dager.

1.2) Bronkiealvøært skyllefluid (BALF)

Etter innsnitt i trachea ble en plastikkanyle satt inn og luftrom ble skylt ved å benytte 0,3 ml PBS-løsning, oppvarmet til 37 °C. Prøvene som ble samlet inn ble ekspedert i 2 fraksjoner: den første (1 ml tilsvarende de første 2 skyllingene) ble benyttet til mediatormåling og den andre til cellebestemmelse (4 ml). Den første fraksjonen ble sentrifugert (600 g i 10 minutter) og supernatant ble fraksjonert og holdt ved -80 °C inntil mediatorbestemmelse. Celle-pelletten ble deretter resuspendert i 0,4 ml steril NaCl 0,9 % og slått sammen med den andre fraksjonen og ble benyttet til celledtelling.

1.3) Lungehomogenisering

Etter BAL ble hele lungen fjernet og plassert inne i et mikrorør (Lysing matrix D, Q Bio Gene, Illkrich, Frankrike) med 1 ml PBS, totalt lungevevsekstrakt ble klergjort ved å benytte et Fastprep®-system (FP120, Q Bio Gene, Illkrich, Frankrike), ekstraktet ble deretter sentrifugert og supernatanten lagret ved -80 ° før mediatormåling og kollagenanalyse med Sircol Collagen Assay (France Biochem Division, Frankrike).

1.4) Celledtelling og bestemmelse

Totalcelledtelling ble bestemt i BAL-fluid ved å benytte et Malassez-hemocytometer. Forskjellige celledtelling ble utført på cytospin-preparater (Cytospin-3, Thermo Shandon) etter farging med MGG Diff-quick (Dade Behring AG).

Forskjellige celledetallinger ble gjort på 200 celler ved å benytte standard morfologiske kriterier.

1.5) TNF-måling

- 5 TNF-nivå i BALF ble bestemt ved å benytte ELISA-analysesett (Mouse DuoSet, R&D Systems, Minneapolis, USA) i overensstemmelse med produsentens instruksjoner. Resultater er gitt som pg/ml.

1.6) MPO-måling

- 10 MPO-nivåer ble målt ved administrering av XG-102. MPO ble ikke signifikant induisert etter bleomycin i dette eksperimentet. Videre hadde XG-102 ingen effekt på MPO-nivåer i lungene.

1.7) Histologi

- 15 Etter BAL og lungeperfusjon ble den store lappen fiksert i 4 % bufret formaldehyd for standard mikroskopanalyse. 3-m seksjoner ble farget med hematoxylin og eosin (H&E).

2.) Resultater

20 A) Første studie: Bleomycin (BLM) induerte akutt lungeinflammasjon

Grupper: Vehikkel, XG-102 (SEQ ID nr. 11) 0,001 mg/kg og XG-102 (SEQ ID nr. 11) 0,1 mg/kg.

Rute: s.c.-rute, enkeltdose.

25 a) Cellerekruttering i bronkiealveolært skyllerom

- Ved 0,1 mg/kg reduserer XG-102 (SEQ ID nr. 11) signifikant nøytrofilrekrutteringen og antallet totale celler i det inflammatoriske stadiet. Ved 0,001 mg/kg har XG-102 (SEQ ID nr. 11) ingen effekt på nøytrofilrekruttering eller andre cellyper i det bronkiealveoleære rommet (ett representativt eksperiment med 30 n=5 mus per gruppe, *, p<0,05, **, p<0,001).

b) Cellerekruttering i lunge ved å benytte MPO i lungehomogenisering

Myeloperoksidase (MPO) spiller en viktig rolle i vertsforsvarssystemer. Dette 140 kDa proteinet, som er sammensatt av to tunge kjeder på 53 kDa og to lette kjeder på

15 kDa, ble først oppdaget i 1960-årene. Frigjøringen av MPO fra granulene i nøytrofiler og monocytter som respons på aktiveringen av leukocytter muliggjør konverteringen av hydrogenperoksid og kloridioner til hypoklorsyre (HOCl), som er et sterkt oksidasjonsmiddel. Selv om MPO har et viktig formål i forsvarssystemet så viser ulike studier at MPO også spiller en rolle i flere inflammatoriske tilstander, der et forhøyet MPO-nivå f.eks. har blitt koblet til koronar arteriesykdommer. Videre gjenspeiler vevs-MPO-nivåer tilstanden til aktivering av nøytrofiler og gir en indikasjon på vevsinfiltrering av nøytrofiler.

I foreliggende eksperiment ble ikke MPO signifikant induisert etter administrering av bleomycin. XG-102 (SEQ ID nr. 11) hadde slik ingen effekt på MPO-nivåene i lungene (se figur 7).

c) TNF-måling

Ved måling av TNF-nivåer ble det observert en trend mot reduksjon av TNF-nivået i BALF etter administrering av XG-102 (SEQ ID nr. 11), selv om TNF-nivåer var svært lave etter BLM-administrering (se figur 8).

d) konklusjon

Det kunne bli observert at 0,1 mg/kg XG-102 (SEQ ID nr. 11) minsker nøytrofil- og total cellerekuttering i det bronkiealveolære rommet og induserer en trend mot minskning av TNF-nivået. Videre viste undersøkelsen av de histologiske snittene en minskning av den inflammatoriske celleakkumuleringen i det peribronkiale rommet. Det kan slik bli konkludert med at XG-102 (SEQ ID nr. 11) reduserer den bleomycin-induserte inflammasjonen.

I overensstemmelse med de oppnådde resultatene ble eksperimentet i tillegg utført i en fibrosemodell.

B) Andre studie: Bleomycin (BLM)-indusert lungefibrose

Grupper: Vehikkel, XG-102 (SEQ ID nr. 11) 0,001 mg/kg og XG-102 (SEQ ID nr. 11) 0,1 mg/kg.

Rute: s.c. rute, 3 ganger på 10 dager.

a) Cellerekuttering i bronkoalveolærskyllingsrom

Ved 0,001 mg/kg reduserte XG-102 (SEQ ID nr. 11) signifikant lymfocyttrékuttering og antallet totale celler rekruttert i det inflammatoriske

stadiet, ved dette tidspunktet kjennetegnet ved lymfocyttrekutteringen. Ved 0,1 mg/kg hadde XG-102 (SEQ ID nr. 11) ingen effekt (n=5 mus per gruppe, *, p<0,05, **, p<0,001) (se figur 9).

5 *a) Histologi*

Seksjoner av lunge på 3 µm ble farget med hematoxylin og eosin. Inflammatorisk cellakkumulering, fibrotiske områder, tap av lungearkitektur ble observert 10 dager etter BLM-administrering. En minskning i disse parameterne ble observert etter administrering av XG-102 ved en lav dose (0,001 mg/kg) men ikke med den høye dosen (0,1 mg/kg) (se figur 10).

b) Konklusjon:

Det kan bli konkludert med at XG-102 (SEQ ID nr. 11) administrert 3 ganger ved den lave dosen på 0,001 mg/kg minsket den bleomycin-induserte senere inflammasjonen, spesielt lymfocyttrekutteringen observert på dette tidspunktet. Videre stopper teststoffet administrert 3 ganger ved denne dosen den bleomycin-induserte fibrosen. Mindre omfattende fibrotiske områder med en mer konservert lungestruktur kunne bli observert.

20 **Eksempel 14: Bestemmelse av aktiviteten til kun-D-retro-invers-IB(s)-peptider og varianter derav i behandlingen av Alzheimers sykdom**

For å bestemme aktiviteten til det eksemplarisk all-D-retro-invers-IB(s)-peptidet XG-102 (SEQ ID nr. 11) i Alzheimers sykdom ble XG-102 (SEQ ID nr. 11) evaluert i den hAPP-transgene musemodellen som overuttrykker APP751 med London- og Swedish-mutasjoner ved å benytte Morris-Water-Maze-atferdstesten i tillegg til immunhistologiske tester som måler plakkbelastning og ELISA-tester som måler β-amyloid₁₋₄₀- og β-amyloid₁₋₄₂-nivåer i hjernen til mus.

a) Fremgangsmåter

30 i) Introduksjon

Studien ble designet for å evaluere virkningsevnen til testforbindelsen XG-102 (SEQ ID nr. 11) på adferdsmessige, biokjemiske og histologiske markører ved å benytte 5 måneder gamle (+/- 2 uker) hAPP-Tg-hunnmus. Derfor ble mus behandlet hver andre eller tredje uke opp til 4 måneder og på slutten av behandlingsperioden ble adferd evaluert i Morris-Water-Maze. Ved avlivning ble hjerne, CSF og blod samlet inn. Aβ₄₀- og Aβ₄₂-nivåer ble bestemt i fire ulike

hjernehomogenatfraksjoner i tillegg til i CSF fra Tg-mus. Plakkbelastning ble kvantifisert i cortex og hippocampus hos 8 Tg-dyr per behandlingsgruppe.

ii) Dyr

5 Tg-hunnmus med en C57BL/6xDBA-bakgrunn og en alder på 5 måneder (+/- 2 uker) ble tilfeldig tilordnet behandlingsgrupper 1 til 3 (n=12). Dyr ble utsatt for administrering av vehikkel eller XG-102 (SEQ ID nr. 11) i to ulike konsentrasjoner ved å begynne ved 5 måneders alder og fortsatte opp til 4 måneder med subkutane (s.c.) påføringer hver andre eller tredje uke. Alle dyr som ble benyttet i foreliggende undersøkelse hadde mørke øyne og ville sannsynlig fornemme menene på utsiden av MWM-samlingen. Dette måtte likevel ekskluderes at synsevnen til dyrene var dårlig, noe som ble kontrollert i den synlige plattformtreningen, den såkalte pretesten, før behandlingsstart for alle dyrene inkludert reserver inntatt i studien. I tilfellet der et synshandikap for et spesifikt dyr ville bli bekreftet ville musen måtte ha blitt ekskludert fra studien.

iii) Identifisering av dyr og oppbevaring

Mus ble individuelt identifisert med øremerking. De ble oppbevart i individuelle, ventilerte bur (IVC'er) på standardisert leie for gnagere, levert av Rettenmaier®. Hvert bur inneholdt maksimalt fem mus. Mus ble holdt i overensstemmelse med JSW Standard Operating Procedures (SOP GEN011) som er utarbeidet på basis av internasjonale standarder. Hvert bur ble identifisert med et farget kort som indikerer studienummer, kjønn, de individuelle registreringsnummer (IRN) for dyrene, dato for fødsel, i tillegg til screeningdatoen og behandlingsgruppeallokeringen. Temperaturen under studiet ble opprettholdt ved omtrent 24 °C og den relative fuktigheten ble opprettholdt ved omtrent 40-70 %. Dyr ble oppbevart under en konstant lyssyklus (12 timer lys/mørke). Normalt springvann var tilgjengelig for dyrene ad libitum.

30 iv) Behandling

Førti hAPP-transgene hunnmus ble behandlet med enten 0,1 mg/kg b.w./hver andre uke eller 10 mg/kg b.w./hver tredje uke av testforbindelsen XG-102 (SEQ ID nr. 11) i to ulike doseringer (n=12/gruppe) eller behandlet med vehikkel (n=12) s.c. én gang hver tredje uke over fire måneder.

35

v) Morris-Water-Maze

Morris-Water-Maze (MWM)-oppgaven ble utført i et svart, sirkulært basseng med diameter på 100 cm. Springvann ble fylt i med en temperatur på 22 +/- 1 °C og bassenget ble virtuelt delt i fire sektorer. En transparent plattform (8 cm i diameter) ble plassert omtrent 0,5 cm under vannoverflaten. Under hele testsesjonen, bortsett fra under pretesten, var plattformen lokalisert i den sydvestre kvadranten av bassenget. Én dag før den 4 dager lange treningssesjonen måtte dyrene utføre en såkalt «pretest» (to prøver som varte 60 sek) for å sikre at synsevne for hvert dyr var normal. Kun dyr som fullførte denne oppgaven ble tatt med i MWM-testingen. I MWM-oppgaven måtte hver mus utføre tre prøver på fire påfølgende dager. En enkelt prøve varte i maksimalt ett minutt. I løpet av denne tiden hadde musen muligheten til å finne frem til det skjulte, gjennomsiktige målet. Dersom dyret ikke kunne finne en «vei» ut av vannet ledet undersøkeren musen, eller plasserte den, på plattformen. Etter hver prøve ble musene tillatt å hvile på plattformen i 10-15 sekunder. I løpet av denne tiden hadde musene en mulighet til å orientere seg i omgivelsene. Undersøkelsene fant sted under dempede lysbetingelser, for å spare sporingssystemet for negativ påvirkning (Kaminski, PCS, Biomedical, Research Systems). På veggene rundt bassenget var plakater med svarte, tydelige geometriske symboler (f.eks. sirkler og kvadrater) festet som musene kunne benytte som landemerker til sin orientering. Én svømmegruppe per prøve besto av fem til seks mus, slik at en tid mellom hver prøve på omtrent fem til ti minutter var sikret. For kvantifisering av fluktlaten (tiden (sekund) – som musen behøvde for å finne den skjulte plattformen og derfor flykte fra vannet) banevalg (lengden av ruten (meter) for å nå målet) og for fastholdelse i målkvadranten ble et datasporingssystem benyttet. Datamaskinen var koblet til et kamera plassert over sentrum av bassenget. Kameraet detekterte et signal fra den lyseutsendende dioden (LED) som var festet med en liten hårspenne på musens hale. Én time etter siste prøve på dag 4 måtte musene gjennomføre en såkalt probeprobe. På dette tidspunktet ble plattformen fjernet fra bassenget og i løpet av den ett minutt lange probeproven talte eksperimentøren antallet krysninger over den tidligere målposisjonen. I tillegg ble fastholdelsen til denne kvadranten i tillegg til i de tre andre kvadrantene beregnet. Gjennom hele denne prøven kunne ikke musen få noen som helst hjelp fra plattformen.

vi) Vevsprøvetaking

Ved slutten av behandlingsperioden, og følgende all adferdstesting, så ble alle gjenværende mus avlivet (n=28). Derfor ble alle mus bedøvet ved standard inhaleringsanestetika (Isofluran, Baxter) som beskrevet i SOP MET030. Cerebrospinalfluid (CSF) ble oppnådd ved ren eksponering og eksponering av foramen magnum. Ved eksponering ble en Pasteur-pipette ført inn til en dybde på omtrent 0,3-1 mm i foramen magnum. CSF ble samlet inn ved suging og kapillærvirkning inntil strømming stoppet helt opp. To volumer av hver prøve ble

umiddelbart frosset ned og holdt ved $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, inntil det var klart for ytterligere analyse med ELISA-teknikk. Etter CSF-prøvetagning ble hver mus plassert i liggende på ryggen, thorax ble åpnet og en 26-gauge nål festet til en 1 cc-sprøyte ble ført inn i høyre ventrikulære hjertekammer. Lett sug ble brukt i nålen og blod ble samlet inn i EDTA og deretter benyttet for å oppnå plasma. For å få frem plasma ble blodprøver fra hver mus spunnet ved 1750 rpm (700 g) i 10 minutter i en sentrifuge (GS – 6R Beckmann) ved å benytte en rotor med svingende beholdere (GH – 3.8 Becman). Plasma ble frosset og lagret ved $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ inntil videre analyse. Etter blodprøvetagning ble transgene mus intrakardialt perfusert med 0,9 % natriumklorid. Hjerner ble raskt fjernet og cerebellum skåret av. Den høyre hjernehalvdelen fra alle mus ble immersjonsfiksert i frisk tillaget 4 % paraformaldehyd/PBS (pH 7,4) i én time ved romtemperatur. Deretter ble hjerner overført til en løsning av 15 % sukrose PBS i 24 timer for å sikre cryobeskyttelse. På den neste dagen ble hjerner frosset i isopentan og lagret ved $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ inntil de ble benyttet i histologiske undersøkelser (SOP MET042). Den venstre hjernehalvdelen ble veid og frosset i flytende nitrogen og lagret ved $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ for biokjemisk analyse.

vii) Bestemmelse av $A\beta_{1-40}$ og $A\beta_{1-42}$

I fire ulike hjernehomogenatfraksjoner fra hver Tg-mus i tillegg til i CSF-prøver ble nivåene av $A\beta_{1-40}$ og $A\beta_{1-42}$ evaluert med ELISA-teknikk. Svært sensitive testsett for $A\beta_{1-40}$ og $A\beta_{1-42}$ ble kjøpt fra The Genetics Company™, Sveits (SOP MET058). CSF ble klargjort som beskrevet ovenfor. For hjernehomogenater ble frosne hjernehalvdeler homogenisert i Tris-bufret saltløsning (TBS)-buffer (5 ml) inneholdende proteaseinhibitor-coctail. 1,25 ml av dette hjerne-TBS-homogenatet ble lagret ved $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, 1,25 ml har blitt undersøkt videre. Det gjenværende hjernehomogenatet (2,5 ml) ble sentrifugert og den resulterende supernatanten (= TBS-fraksjon) ble delt opp og holdt ved $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ inntil ELISA-bestemmelse. Pelleten ble suspendert i Triton X-100 (2,5 ml), sentrifugert og supernatanten (= Triton X-100-fraksjon) ble delt opp og holdt ved $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Disse trinnene ble repetert med SDS (2,5 ml). Pelleten ut av SDS-fraksjonen ble suspendert i 70 % maursyre (0,5 ml) før påfølgende sentrifugering.

Den oppnådde supernatanten ble nøytralisert med 1 M Tris (9,5 ml) delt opp og holdt ved $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (= FA-fraksjon). Prøver av de fire hjernehomogenatfraksjonene (TBS, Triton X-100, SDS og FA) ble benyttet til bestemmelse av $A\beta_{1-40}$ og $A\beta_{1-42}$ med ELISA-teknikk. ELISA-testsett ble kjøpt fra The Genetics Company™, Sveits (SOP MET062). Den kan bli antatt at TBS og Triton X-100 løseliggjør monomere til oligomere strukturer. Polymerer slik som protofibriller og vannuløselige fibriller kan bli løst i SDS og FA. I så henseende tilveiebringer undersøkelsen av alle fire også innsyn i A-polymeriseringsstatus.

viii) Evaluering av hjernemorfologi

Hjernevev fra alle Tg-dyr som ble undersøkt ble håndtert på eksakt samme måte for å unngå tendenser som skyldes variasjon i denne prosedyren. Fra hjernehalvdeler fra 24 Tg-mus (8 i hver gruppe) ble 20 cryo-seksjoner per lag (totalt 5 lag), hver 10 μm tykk (Leica CM 3050S) ble pilformet kuttet og 5 (én fra hvert lag) ble prosessert og evaluert for kvantifisering av plakkbelastning. De fem pilformede lagene tilsvarer figurene 104 til 105, 107 til 108, 111 til 112, 115 til 116 og 118 til 119 ifølge det morfologiske atlaset «The mouse brain» fra Paxinos og Franklin (2.utgave). Det første laget var spesifisert ved kravet om å inkludere hele hippocampus med dens regioner CA1, CA2, CA3, GD1b og GDmb. Immunreaktivitet ble kvantitativt evaluert i hippocampus og i cortex ved å benytte det monoklonale, humane A β -spesifikke antistoffet 6E10 (Signet) i tillegg til ThioflavinS-farging. Gjenværende hjernehalvdeler eller vev som ikke ble benyttet ble tatt vare på og lagret ved JSW CNS inntil slutten av prosjektet.

15

b) Evaluering

i) Adferd

I Morris-Water-Maze-prøvene ble svømt lengde, fluktlatens, svømmehastighet, og i probeprøvene, kryssing over den tidligere plattformposisjonen og tid for opphold i hver kvadrant i bassenget, målt for hvert Tg-dyr med en spesiell programvare.

20

ii) Biokjemisk evaluering

Fra alle Tg-mus ble CSF-prøver i tillegg til prøver fra hjernepreparatene analysert med kommersielt tilgjengelige ELISA-tester for A β_{1-40} og A β_{1-42} . Målinger av adekvate standarder ble utørt samtidig. Prøver fra hjernepreparater ble analysert i duplikater. På grunn av den lille prøvemengden ble CSF-prøver analysert i kun en enkelt måling.

25

iii) Histologi

30 i1) Måling av amyloid-deponeringer og plakkbelastning

For 6E10-immunhistokjemi ble den følgende evalueringsprosedyren benyttet:

aa) Kontrastering av bildet for visualisering av snittgrenser uten påføring av kontrasten på bildet.

35

bb) Interaktiv tegning av cortex-konturene og den følgende målingen av cortex-arealet (=regionareal).

cc) Interaktiv tegning av området av interesse (AOI) der fargede objekter blir påvist over en viss intensitet basert på grensenivå (det samme for hvert bilde) og over en størrelse på $8 \mu\text{m}^2$.

5 dd) Måling av arealet til objektet, summen av farget areal i AOI i tillegg til antall objekter etter jevn kontrastering for å forsterke forholdet signal/støy (det samme for hvert bilde).

ee) Repetisjon av aa)-dd) for hippocampus.

10 ff) Beregning av den gjennomsnittlige plakkstørrelsen (= sum areal for plakk/antall plakk), det relative plakkantallet og arealet (= antall plakk/regionareal og sum areal av plakk/regionareal * 100).

15 gg) Automatisert dataeksport inn i et Excel-ark, inkludert parameterne «bildetittel, regionareal, antall plakk, sum av plakkareal, relativt plakkantall, relativt plakkareal og gjennomsnittlig plakkstørrelse. Et felt for bemerkninger ble benyttet for å registrere henholdsvis bildekvalitet og eksklusjonskriterier. Eksklusjonskriterier var manglende deler av snittet, mange rynker, dominante mangler eller ikke-konsistent farging (f.eks. på grunn av utbulinger som kan forstyrre den fulle reaksjonen av blokkeringsreagens).

hh) Lukke vinduet uten å lagre (for å beholde rådataene rå).

20 Resultater

i) Generelle observasjoner

Totalt 40 hAPP-Tg-hunnmus ble inntatt i studien. Fra disse musene døde 12 mus av ukjente grunner før behandlingsperioden var ferdig.

ii) Adferdsresultater

25 Spatial læring i MWM forble i stor grad upåvirket av XG-102 (SEQ ID nr. 11)-behandling. Mus behandlet med 0,1 mg/kg viste en tendens til å ha dårligere læringsevne mellom dag 1 og dag 4. En toveis-ANOVA av den gjennomsnittlige evnen på dag 1 og 4 avslørte svært signifikant læring for alle grupper ($p < 0,001$), men også en signifikant påvirkning av faktorbehandling ($p = 0,045$). Likevel nådde 30 ikke Bonferronis post-test signifikans.

iii) Biokjemiske resultater

aa) $A\beta$ -nivåer i hjernehomogenatfraksjoner

35 En behandling med testforbindelsen XG-102 (SEQ ID nr. 11) påvirket ikke hjernehomogenatnivåer av $A\beta_{1-40}$ (se figur 11). Gruppeforskjeller i $A\beta_{1-42}$ -nivåer forekom kun i Triton X-100-fraksjon. Der viste dyr behandlet med den lave dosen av testforbindelsen XG-102 (SEQ ID nr. 11) (0,1 mg/kg) en

signifikant reduksjon sammenlignet med vehikkelgruppen ($p < 0,05$) og sammenlignet med høydosegruppen ($p < 0,01$).

bb) CSF-A β -nivåer

5 Etter behandling med testforbindelsen XG-102 (SEQ ID nr. 11) var nivåer av A β_{1-40} og A β_{1-42} signifikant minsket i CSF sammenlignet med vehikkelgruppe. For både A β_{1-40} og A β_{1-42} var p-verdier $p < 0,01$ for den høye dosen (10 mg/kg) og $< 0,05$ for den lave dosen av XG-102 (SEQ ID nr. 11) (se figur 12).

10 iv) Resultater av hjernehistologi og immunhistokjemi

aa) Amyloid-deponeringer og plakkbelastning

15 Plakkbelastning ble kvantifisert med to ulike fremgangsmåter. På den ene siden ble en IHC-farging med 6E10 primært rettet mot AA1-17 på det humane amyloide peptidet utført, på den andre siden ble en ThioflavinS-farging som markerer beta-falte-strukturer og kjerner for modne, neuritiske plakk utført. Først av alt var målte regionarealer, cortex og hippocampus svært konstante i alle grupper, noe som indikerer at problemer i kutting og IHC-prosedyrer kan bli ekskludert og til en viss grad også en

20 behandlingsindusert atrofi (endringer på > 5 % ville vært påviselige med denne fremgangsmåten). 6E10- og ThioflavinS-kvantifiseringer avslørte en selektiv reduksjon av beta-flatestrukturer i sentrum av plakkene etter behandling med XG-102 (SEQ ID nr. 11), mens humant amyloid forble upåvirket av behandling eller litt økt. I detalj var cortex-6E10-IR-plakkbelastning økt i forhold til vehikkel hos musene behandlet med 10

25 mg/kg XG-102 (SEQ ID nr. 11), likevel ble signifikansnivå nådd for antallet plakk i hippocampus. Figurene 13 og 14 viser, i kontrast til 6E10-IHC. At behandling med XG-102 (SEQ ID nr. 11) førte til en negativ doseavhengig reduksjon av antallet ThioflavinS-positive plakk i hippocampus, i tillegg til arealprosentandel (antall plakk: $p < 0,05$ for 10 mg/kg, $p < 0,01$ for 0,1 mg/kg XG-102 (SEQ ID nr. 11)). Behandling med 0,1 mg/kg XG-102 (SEQ ID nr.

30 11) reduserte også plakkstørrelse, men denne effekten nådde ikke signifikant nivå i ANOVA (uparet, tohalet T-test: $p = 0,074$). Disse effektene ble ikke gitt for cortex-plakk, et forhold som mest sannsynlig skyldes den senere fremkomsten av plakk-patologi i hippocampus enn i cortex. Behandlingsstart ved 5 måneders alder treffer nøyaktig tidspunktet for plakkdeponering i

35 hippocampus, mens cortex-plakk begynner å bli synlige ved anvendelse av forstørrelse for kvantifisering ved tre måneders alder. Kvalitativt øker andelen 6E10- i forhold til ThioflavinS-fargede plakk, og beta-flateplakk-kjernene, som det fremgår på dobbeltmerkede snitt, blir mindre i størrelse.

Oppsummert underbygger disse dataene at behandling med XG-102 (SEQ ID nr. 11) virker mot beta-flatedannelse i de tidlige fasen av plakkdeponering og beta-flatedannelse i plakkjerner.

5 d) Oppsummering av effekter og konklusjoner.

- Spatial navigasjon målt i Morris-Water-Maze forble i stor grad upåvirket av behandling. Behandling med 0,1 mg/kg XG-102 (SEQ ID nr. 11) førte til litt dårligere læreevne mellom første og siste treningsdag.
- 10 - Bortsett fra en minskning i Triton X-100-fraksjonen i 0,1 mg/kg XG-102 (SEQ ID nr. 11)-gruppen forble hjernenivåer av $A\beta_{1-40}$ og $A\beta_{1-42}$ stabile.
- En minskning i $A\beta$ -nivåer var påvisbar i CSF for begge doseringer og fragmenter.
- 15 - Behandling med XG-102 (SEQ ID nr. 11) førte til en tendensiøs økning av humant amyloid beta i den høyere doserte gruppen i 6E10-kvantifiseringene, som er i overensstemmelse med data oppnådd i $A\beta$ -ELISA.
- 20 - I motsetning til dette var hippocampus-beta-flate-belastningen som ble påvist med ThioflavinS-farging doseavhengig redusert etter behandling med XG-102 (SEQ ID nr. 11), i en høyere grad enn ved lavere dose på 0,1 mg/kg XG-102 (SEQ ID nr. 11), mens cortex-plakkbelastning forble uendret. I overensstemmelse med den
- 25 - aldersavhengige fremkomsten av plakkdeponering i hippocampus ved behandlingsstart henter dette mot en tidlig virkning på beta-flatedannelse i den tidlige fasen av plakkdeponering.

Sammenligningseksempel 15: Bestemmelse av aktiviteten til kun-D-retro-invers-IB(s)-peptider og varianter derav i behandlingen av diabetes type 2

30 Eksempel 15 er designet for å bestemme aktiviteten til IB(s)-peptider og kun-D-retro-invers-IB(s)-peptider og varianter derav i behandlingen av diabetes type 2, spesielt for å bestemme effekten av kronisk behandling med XG-102 (SEQ ID nr. 11) i db/db-musemodell for type-2 diabetes ved evaluering av fastende blodglukosenivåer hver tredje dag (28 dager).

35

a) Materialer og fremgangsmåter

i) Dyr

Totalt 20 db/db-hannmus (8 uker gamle) ble oppnådd fra Charles River (Tyskland). Ved ankomst ble dyrene holdt i grupper (n = 6-7/gruppe) og gitt regulært gnagerfor (Altromin standard #1324-for, C. Petersen, Ringsted, Danmark) og vann ad libitum dersom ikke annet er opplyst.

5 Musene ble holdt under en syklus på 12:12 L/D (lys på kl 04:00 og lys av kl. 16:00) og i temperatur- og fuktighetskontrollerte rom.

ii) Grupper og randomisering

10 På dag -4 ble dyr randomisert i overensstemmelse med blodglukosenivå (fastet, blodglukose målt på Biosen S-line analysator (EKF Diagnostic, Tyskland) for å delta i én av de følgende legemiddelbehandlingsgruppene (n=6):

- 1) Vehikkelkontroll, S.C. (fysiologisk saltløsning)
- 2) XG-102 (SEQ ID nr. 11), 1 mg/kg, s.c.
- 3) XG-102 (SEQ ID nr. 11), 10 mg/kg, s.c.

15

Alle doser som er listet opp ble beregnet for den frie basen. Legemiddelrenhet: 95, 28 %, peptidinnhold: 78,0 %. Alle forbindelser ble administrert subkutant (s.c.) i et volum på 3 ml/kg. Formuleringinstruksjonene for vehikkelkontroll og XG-102 (SEQ ID nr. 11) var som følger:

20 Først ble XG-102 (SEQ ID nr. 11) løst i vehikkelen. Formuleringene (konsentrasjoner på 0,3 og 3,3 mg/ml, tilsvarende doser på henholdsvis 1 og 10 mg/kg) ble klargjort i overensstemmelse med prosedyren som er beskrevet i detalj nedenfor. Konsentrasjoner ble beregnet og uttrykt ved å ta hensyn til testforbindelsesrenhet og peptidinnhold (multiplikatorcoeffisient var 1,346).

25 - Klargjøring av stock-løsning: den frysetørkede testforbindelsen XG-102 (SEQ ID nr. 11) blir tint i én time minimum og klargjort som stock-løsning i vehikkelen ved 1 mM (tilsvarende 3,823 mg/ml). Volumer ble klargjort for hver behandlingsdag og lagret ved omtrent -80 °C.

30 Fortynninger av denne stock-løsningen til de ønskede konsentrasjonene blir utført på hver behandlingsdag,

- Lagring av stock-løsningene: ved omtrent -80 °C,
- Lagring av de fortynnede preparatene: ved romtemperatur i 24 timer maksimalt.

35 Før løseliggjøring ble pulveret lagret ved -20 °C. Stabiliteten til stock-løsningen er 3 måneder ved omtrent -80 °C, stabiliteten til de fortynnede formuleringene for

dyredosering er 24 timer ved romtemperatur. Ubrukt, fortynnet materiale kan bli lagret i opptil 7 dager dersom det oppbevares ved 4-8 °C.

Eksperimentell prosedyre

- 5 Etter 8 dager med akklimatisering ble musene behandlet daglig kl. 08:00 i 21 dager ved SC-dosering 8 timer før lysene slukkes kl. 16:00 i overensstemmelse med gruppene. Deretter, på studiedag 21, så ble dosering av den høyeste konsentrasjonen av XG-102 (SEQ ID nr. 2) (10 mg/kg) stoppet, mens daglig dosering av
- 10 vehikkelkontroll og XG-102 (SEQ ID nr. 2) (1 mg/kg) ble fortsatt inntil studiedag 28. Fra dag 28 inntil terminering på dag 111 ble de vehikkel- og XG-102 (SEQ ID nr. 2) (10 mg/kg)-behandlede musene observert i en utvaskingsperiode (ingen dosering), mens musene behandlet med XG-102 (SEQ ID nr. 2) (1 mg/kg) ble terminert etter 28 dager med behandling.
- i) Blodglukose
- 15 Blodglukose ble målt fra 7 timers fastende dyr 6 timer etter dosering ved innsamling av blodprøver på 10 µl fra halevenen i hematokritrør og påfølgende analyse på en Biosen s-line analysator (EKF-diagnostic, Tyskland).
- ii) Metabolske bur
- 20 Gruppene 1+3: Mus ble plassert i metabolske bur for registrering av 24 timers for- og vanninntak i tillegg til 24 timers urin- og fecesproduksjon. Mus ble stratifisert i to undergrupper på n = 6-7 og deretter ble den metabolske karakteriseringen utført på studiedagene 71-72.
- iii) Adipokinpanel
- 25 Gruppene 1+3: Ved tre tilfeller (studiedagene 57, 66 og 108) ble blod samlet fra halevenen ved å benytte EDTA-belagte hematokritrør (100 µl). Etter sentrifugering av blod ble plasma samlet og lagret ved -20 °C inntil måling. Deretter ble det følgende panelet av adipokiner/cytokiner bestemt ved å benytte Luminex-basert 7-plex: leptin, resistin, MCP-1, PAI-1, TNF, insulin og interleukin-6 (IL-6).
- 30 iv) Terminering
- 35 Gruppene 1+3 (dag 111): De følgende organene ble fjernet og veid: subkutant lyskefett, epididymalt fett, retroperitonealt fett, hjerne, lever, nyre, milt og hjerte. Alle organer beskrevet ovenfor var prøver i 4 % PFA for eventuell fremtidig histopatologisk undersøkelse. Prøver av pankreas (en bloc) ble også tatt for eventuell stereologisk og immunhistokjemisk analyse, øg prøver av øyne ble tatt for eventuell senere analyse av retinopati. Gruppe 2 (dag 28): Ikke noe vev eller plasma ble samlet inn.

c) Resultater

i) Generelle observasjoner

5 Under den akutte doseringsperioden viste dyr normale nivåer av årvåkenhet og aktivitet og det var ingen tegn på sedatering hos de legemiddelbehandlede dyrene. For- og vanninntak lå innenfor normale grenser hos vehikkelbehandlede dyr. Etter omtrent to uker med dosering ble likevel nodulær fibrose observert i det subkutane vevet som en reaksjon på XG-102 (SEQ ID nr. 2)-forbindelse i den høye dosen, og disse utviklet seg til åpne sår hos alle musene i gruppe C. I gruppe B ble mild
10 nodulær fibrose observert. Som en konsekvens ble en endring av injeksjonsstedet foretatt. Etter slutten på dosering av dyrene ble dyrene helet og den nodulære fibrosen forsvant gradvis. Vi observerte ingen kliniske effekter hos de vehikkelbehandlede dyrene.

ii) Blodglukose

15 Fastende blodglukosenivåer (absolutte og relative) er vist på figur 15. Fastende blodglukose ble målt hver tredje dag inntil dag 68 og på en regulær basis inntil terminering på dag 111 i gruppene A og C. Vi observerte en klar og signifikant ($p < 0,001$) minskning i nivået av fastende blodglukose hos de diabetiske db/db-musene behandlet med XG-102 (SEQ ID nr. 2) (10 mg/kg) sammenlignet med
20 vehikkelkontroll. De fastende blodglukosenivåene hos musene behandlet med XG-102 (SEQ ID nr. 2) (10 mg/kg) nådde et lavt platå på omtrent 5 mmol/L. Denne effekten var tydelig etter 14 dager med dosering og vedvarte gjennom hele studien, og slik gjennom hele utvaskingsperioden fra dag 21 til dag 111. I motsetning til dette observerte vi ingen effekt med lavdose XG-102 (SEQ ID nr. 2) (1 mg/kg)
25 gjennom 28 dager med dosering.

iii) Kroppsvekt

Kroppsvektbestemmelser (absolutte og relative) er vist på figur 16. Vi observerte en klar og signifikant ($p < 0,001$) forebygging av kroppsvektøkning hos mus behandlet med XG-102 (SEQ ID nr. 2) (10 mg/kg) sammenlignet med vehikkelkontroll. Denne
30 effekten var åpenbar fra dag 28 med dosering og vedvarte inntil terminering på dag 111. I motsetning til dette observerte vi ingen effekt med lavdose av XG-102 (SEQ ID nr. 2) (1 mg/kg) på kroppsvekt i løpet av de 28 dagene med dosering.

iv) Metabolske bur

Effekten av vehikkel eller XG-102 (SEQ ID nr. 2) (10 mg/kg) på 24 timers for- og
35 vanninntak, og urin- og fecesproduksjon som målt i metabolske bur på studiedag 28 er vist på figurene 17 (g) og 18 (normalisert til g kroppsvekt). Vi observerte ingen signifikante effekter av XG-102 (SEQ ID nr. 2) (10 mg/kg) på noen av de målte

parameterne sammenlignet med vehikkelkontroll selv om en trend mot minskning i matinntak og urinproduksjon ble observert.

v) Adipokiner

5 Effekten av vehikkel eller XG-102 (SEQ ID nr. 2) (10 mg/kg) som målt på dagene 57, 77 og 108 på plasmanivåer av insulin, MCP-1 og IL-6 er vist på figur 19, på plasmanivåer av tPAI-1, TNF og resistin på figur 20. Vi observerte ingen signifikante effekter av XG-102 (SEQ ID nr. 2) (10 mg/kg) på noen av de målte parameterne sammenlignet med vehikkelkontroll, bortsett fra nivåene for plasma-resistin som var signifikant høyere i XG-102 (SEQ ID nr. 2)-behandlede dyr på dag 10 77 og 108.

vi) Vevsvekt og terminering

Effekten av vehikkel eller XG-102 (SEQ ID nr. 2) (10 mg/kg) på vevsvekt av epididymalt, lyske-subkutant og retroperitonealt fett er vist på figur 21. Vi observerte en signifikant minskning av epididymal ($p < 0,05$) og retroperitoneal 15 ($p < 0,01$) fettmasse hos mus behandlet med XG-102 sammenlignet med vehikkelkontroll. Effekten av vehikkel eller XG-102 (SEQ ID nr. 2) (10 mg/kg) på vevsvekt av hjerne, milt og hjerte er vist på figur 22. Vi observerte signifikante effekter av XG-102 (SEQ ID nr. 2) (10 mg/kg) på disse parameterne sammenlignet med vehikkelkontroll. Til slutt er effekten av XG-102 (SEQ ID nr. 2) (10 mg/kg) på 20 vevsvekt av nyre og lever vist på figur 23. Vi observerte en signifikant minskning av nyremasse ($p < 0,05$) og levermasse ($p < 0,01$) i musene behandlet med XG-102 (SEQ ID nr. 2) sammenlignet med vehikkelkontroll.

Som en oppsummering av resultatene ser det ut til at administrering av XG-102 (SEQ ID nr. 11) (10 mg/kg) fører til en signifikant senkning av blodglukosenivåer 25 og derfor ser XG-102 (SEQ ID nr. 11) ut til å være et lovende nytt verktøy for behandling av diabetes og forhøyede blodglukosenivåer.

PATENTKRAV

1. JNK-inhibitorpeptid bestående av en aminosyresekvens ifølge SEQ ID nr. 2 eller kimært peptid bestående av et første domene og et andre domene forbundet med en kovalent binding, der det første domenet omfatter en trafikkeringssekvens, og det andre domenet består av en JNK-inhibitorsekvens ifølge SEQ ID nr. 2, der det første domenet er koblet til den C-terminale enden av det andre domenet, for anvendelse i en fremgangsmåte for behandling av neuronal eller neurodegenerativ sykdom valgt fra dystoni, epilepsi, optisk nervesykdom, glaukom, øyeinfeksjon, axotomi, smerte, neuropatisk smerte og viral enkefalopati.
2. Kimært peptid for anvendelse ifølge krav 1, der det første og andre domenet er forbundet med en linkersekvens omfattende 1 til 10 aminosyrer.
3. Kimært peptid for anvendelse ifølge krav 1 eller 2, der trafikkeringssekvensen omfatter aminosyresekvensen til et humant immunsviktvirus-TAT-polypeptid.
4. Kimært peptid for anvendelse ifølge ethvert av kravene 1 til 3, der trafikkeringssekvensen består av eller omfatter aminosyresekvensen ifølge SEQ ID nr. 5, 6, 7, 8, 21 eller 22.
5. Kimært peptid for anvendelse ifølge ett av kravene 1 til 4, der trafikkeringssekvensene forsterker cellulært opptak av peptidet og/eller styrer nukleær lokalisering av peptidet.
6. Kimært peptid for anvendelse ifølge ethvert av kravene 1 til 5, der det kimære peptidet består av aminosyresekvensen ifølge SEQ ID nr. 11.
7. JNK-inhibitorpeptid for anvendelse ifølge krav 1 eller kimært peptid ifølge ethvert av kravene 1 til 6, der JNK-inhibitorpeptidet eller det kimære peptidet skal bli administrert ved en administreringsrute valgt fra gruppen bestående av parenterale ruter, inkludert intravenøse, intramuskulære, subkutane, intradermale, transdermale, enterale ruter, inkludert orale, rektale, topiske ruter, inkludert nasale, intranasale og andre ruter, inkludert epidermal levering eller plasterlevering.
8. JNK-inhibitorpeptid for anvendelse ifølge krav 1 eller 7, eller det kimære peptidet ifølge ethvert av kravene 1 til 6, der en dose (per kg kroppsvekt) av JNK-inhibitorpeptidet eller det kimære peptidet er i området på opp til 10 mmol/kg, fortrinnsvis opp til 1 mmol/kg, mer foretrukket opp til 100 µmol/kg, enda mer

foretrukket opp til 10 $\mu\text{mol/kg}$, enda mer foretrukket opp til 1 $\mu\text{mol/kg}$, enda mer foretrukket opp til 100 nmol/kg , mest foretrukket opp til 50 nmol/kg .

9. JNK-inhibitorpeptid for anvendelse ifølge krav 1, 7 eller 8, eller det kimære peptidet ifølge ethvert av kravene 1 til 7, der en dose av JNK-inhibitorpeptidet eller det kimære peptidet er i området fra omtrent 1 pmol/kg til omtrent 1 mmol/kg , fra omtrent 10 pmol/kg til omtrent 0,1 mmol/kg , fra omtrent 10 pmol/kg til omtrent 0,01 mmol/kg , fra omtrent 50 pmol/kg til omtrent 1 $\mu\text{mol/kg}$, fra omtrent 100 pmol/kg til omtrent 500 nmol/kg , fra omtrent 200 pmol/kg til omtrent 300 nmol/kg , fra omtrent 300 pmol/kg til omtrent 100 nmol/kg , fra omtrent 500 pmol/kg til omtrent 50 nmol/kg , fra omtrent 750 pmol/kg til omtrent 30 nmol/kg , fra omtrent 250 pmol/kg til omtrent 5 nmol/kg , fra omtrent 1 nmol/kg til omtrent 10 nmol/kg eller en kombinasjon av hvilke som helst to av nevnte verdier.

REFERANSER ANGITT I BESKRIVELSEN

Denne referanselisten angitt av søkeren er bare for leserens bekvemmelighet. Den danner ikke en del av det europeiske patentdokumentet. Selv om det er tatt stort hensyn ved utformingen av referansene så kan feil eller utelatelser ikke utelukkes og EPO frasier seg ethvert ansvar i så henseende.

Patent dokumenterangitt i beskrivelsen

- WO 0127268 A [0009] [0010]
- WO 2007031280 A [0009] [0010]
- US 5804604 A [0059]
- US 5674980 A [0059]
- WO 9705265 A [0059]
- US 4946778 A [0108]
- US 5225539 A [0108]
- US 4980286 A [0131]
- WO 9408598 A [0133]
- EP 415731 A [0136]
- WO 9007936 A [0136]

Ikke-patent litteraturangitt i beskrivelsen

- HUI et al. *Nature Genetics*, June 2007, vol. 39 (6) [0002]
- ZHUANG et al. *The Journal of Neuroscience*, 29 March 2006, vol. 26 (13), 3551-3560 [0002]
- KUAN et al. *Current Drug Targets - CNS & Neurological Disorders*, February 2005, vol. 4 (1), 63-67 [0004]
- BORASIO et al. *Neuroreport*, 11 May 1998, vol. 9 (7), 1435-1439 [0005]
- WANG et al. *Neurosci Res.*, February 2004, vol. 48 (2), 195-202 [0006]
- CARBONI et al. *J Pharmacol Exp Ther.*, 26 February 2004, vol. 310 (1), 25-32 [0007]
- JAMESON. *Nature*, 1994, vol. 368, 744-746 [0033]
- BRADY. *Nature*, 1994, vol. 368, 692-693 [0033]
- HOPP; WOODS. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1981, vol. 78, 3824-3828 [0037]
- CHOU; FASMAN. *Biochem*, 1974, vol. 13, 222-223 [0037]
- ENGSTROM. *Biochem Exp Biol*, 1974, vol. 11, 7-13 [0037]
- METHODS IN PROTEIN SCIENCE. J. Wiley and Sons, 1997 [0037]
- Computer Graphics and Molecular Modeling. CURRENT COMMUNICATIONS IN MOLECULAR BIOLOGY. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1986 [0037]
- GRANTHAM, R. *Science*, 1974, vol. 185, 862-864 [0039]
- DEVEREUX et al. *Nucleic Acids Res.*, 1984, vol. 12, 387-395 [0047]
- SMITH ; WATERMAN. *J. Mol. Biol.*, 1981, vol. 147, 195-197 [0047]
- ALTSCHUL et al. *J. Mol. Biol.*, 1990, vol. 275, 403-410 [0047]
- PEARSON. *Methods Enzymol.*, 1990, vol. 183, 63-98 [0047]
- PEARSON ; LIPMAN. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 1988, vol. 85, 2444-2448 [0047]
- SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. *Molecular cloning: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989 [0058]
- ELLIOTT; O'HARE. *Cell*, 1997, vol. 88, 223-233 [0059]
- JACKSON et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, vol. 89, 10691-10695 [0059]
- FRANKED et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, vol. 86, 7397-7401 [0061]
- DANG ; LEE. *J. Biol. Chem.*, 1989, vol. 264, 18019-18023 [0065]
- HAUBER et al. *J. Virol.*, 1989, vol. 63, 1181-1187 [0065]
- *J. Virol.*, 1989, vol. 63, 1-8 [0065]
- SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. *Molecular cloning: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory, 1989 [0065]
- MEANS; FEENEY. *CHEMICAL MODIFICATION OF PROTEINS*. Holden-Day, 1974, 39-43 [0077]
- WONG. *CHEMISTRY OF PROTEIN CONJUGATION AND CROSSLINKING*. CRC Press, 1991 [0082]
- *Current Protocols in Molecular Biology*. John Wiley and Sons, 1993 [0092] [0093]
- KRIEGLER. *Gene Transfer and Expression, a Laboratory Manual*. Stockton Press, 1990 [0092] [0093]
- *CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY*. John Wiley and Sons, 1993 [0094]
- KRIEGLER. *GENE TRANSFER AND EXPRESSION, A LABORATORY MANUAL*. Stockton Press, 1990 [0094]
- BLACKWOOD ; KADONAGA. *Science*, 1998, vol. 281, 61-63 [0096]
- LI ; HARJU ; PETERSON. *Trends Genet.*, 1999, vol. 15, 403-408 [0096]
- WOOD ; DE WET; DEWJI ; DELUCA. *Biochem Biophys. Res. Commun.*, 1984, vol. 124, 592-596 [0097]

- **SELIGER ; MCELROY.** *Arch. Biochem. Biophys.*, 1960, vol. 88, 136-141 [0097]
- **HANAHAN et al.** *Nature*, 1985, vol. 315, 115-122 [0099]
- **GROSSCHEDL et al.** *Cell*, 1984, vol. 38, 647-658 [0099]
- **PINCKERT et al.** *Genes and Dev*, 1987, vol. 1, 268-276 [0099]
- **READHEAD et al.** *Cell*, 1987, vol. 48, 703-712 [0099]
- **MASON et al.** *Science*, 1986, vol. 234, 1372-1378 [0099]
- **KOHLER ; MILSTEIN.** *Nature*, 1975, vol. 256, 495-497 [0107]
- **KOZBOR et al.** *Immunol Today*, 1983, vol. 4, 72 [0107]
- **COLE et al.** *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*. Alan R. Liss, Inc, 1985, 77-96 [0107]
- **COTE et al.** *Proc Natl Acad Sci USA*, 1983, vol. 80, 2026-2030 [0107]
- **COLE.** *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*. Alan R. Liss, Inc, 1985, 77-96 [0107]
- **HUSE et al.** *Science*, 1989, vol. 246, 1275-1281 [0108]
- **FLORENCE MEYER-LOS IC et al.** *Clin Cancer Res.*, 2008, 2145-53 [0113]
- REMINGTONS PHARMACEUTICAL SCIENCES. 1980 [0116]
- **GOLDSPIEL et al.** *Clin Pharm*, 1993, vol. 12, 488-505 [0128]
- **KOLLER ; SMITHIES.** *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, vol. 86, 8932-8935 [0130]
- **WU ; WU.** *J Biol Chem*, 1987, vol. 262, 4429-4432 [0131]
- **LOEFFLER ; BEHR.** *Meth Enzymol*, 1993, vol. 217, 599-618 [0132]
- **STEMPLE ; ANDERSON.** *Cell*, 1992, vol. 71, 973-985 [0133]
- **INNIS et al.** *PCR PROTOCOLS*. Academic Press, Inc, 1990 [0138]
- **DICKENS et al.** *Science*, 1997, vol. 277, 693 [0143]
- **VIVES et al.** *J Biol. Chem.*, 1997, vol. 272, 1601 0 [0145]
- **WHITMARSH et al.** *Science*, 1999, vol. 285, 1573 [0159]
- **JAMESON et al.** *Nature*, 1994, vol. 368, 744-746 [0161]
- **BRADY et al.** *Nature*, 1994, vol. 368, 692-693 [0161]
- **GUICHARD.** *J. Med. Chem.*, 1996, vol. 39, 2030-2039 [0161]
- **TAYLOR et al.** *J. Virology*, 2004, vol. 78, 2853-2862 [0173]

Peptidsekvenser, human, mus og rotte

```

      :: **.:
A  IB2  :  IPSVSEEPHKHRPTTLRL--TTLGAQDS
      IB1  :  PGTGCGDTYRPKRPTTLNLFPPQVPRSQDT
      c-Jun :  GAYGSNPKILKQSMTLNLADPVGNLKPH
      ATF2 :  TNEDHLAVHKHHEMTLKFGPARNDSVIV

      : . . ***** * **.:
B  L-IB1(s) :  ---RPKRPTTLNLFPPQVPRSQD
      L-IB1  :  DTYRPKRPTTLNLFPPQVPRSQDT
              o o o

C  L-TAT :  NH2-GRKKRRQRRR-COOH
      L-TAT-IB1(s) :  NH2-GRKKRRQRRRPP---RPKRPTTLNLFPPQVPRSQD-COOH
      L-TAT-IB1  :  NH2-GRKKRRQRRRPPDTYRPKRPTTLNLFPPQVPRSQDT-COOH

      D-TAT :  NH2-RRRQRRKRG-COOH
      D-TAT-IB1(s) :  NH2---DQSRPVQPFNLNLTTPRKPR---PFRRRQRRKRG-COOH
      D-TAT-IB1  :  NH2-TDQSRPVQPFNLNLTTPRKPRYTDPPFRRRQRRKRG-COOH

```

Fig. 1

Genetiske sekvenser, human, mus og rotte

L-generic-TAT(s) : $\text{NH}_2\text{-X}_n^b\text{-RKKRRQRRR-X}_n^b\text{-COOH}$
 L-TAT-IB (generic) (s): $\text{NH}_2\text{-X}_n^b\text{-RKKRRQRRR-X}_n^b\text{-X}_n^a\text{-RPTTLXLXXXXXXXXQD-X}_n^b\text{-COOH}$
 L-TAT-IB (generic) : $\text{NH}_2\text{-XXXXXXXXRKRQRRRXXXXXXXXXXRPTTLXLXXXXXXXXQDS/TX-COOH}$

 D-generic-TAT(s) : $\text{NH}_2\text{-X}_n^b\text{-RRRQRRKKR-X}_n^b\text{-COOH}$
 D-TAT-IB (generic) (s): $\text{NH}_2\text{-X}_n^b\text{-DQXXXXXXXXLXLTPR-X}_n^a\text{-X}_n^b\text{-RRRQRRKKR-X}_n^b\text{-COOH}$
 D-TAT-IB (generic) : $\text{NH}_2\text{-XT/SDQXXXXXXXXLXLTPRXXXXXXXXXXRRRQRRKKRXXXXXXXXX-COOH}$

Fig. 2

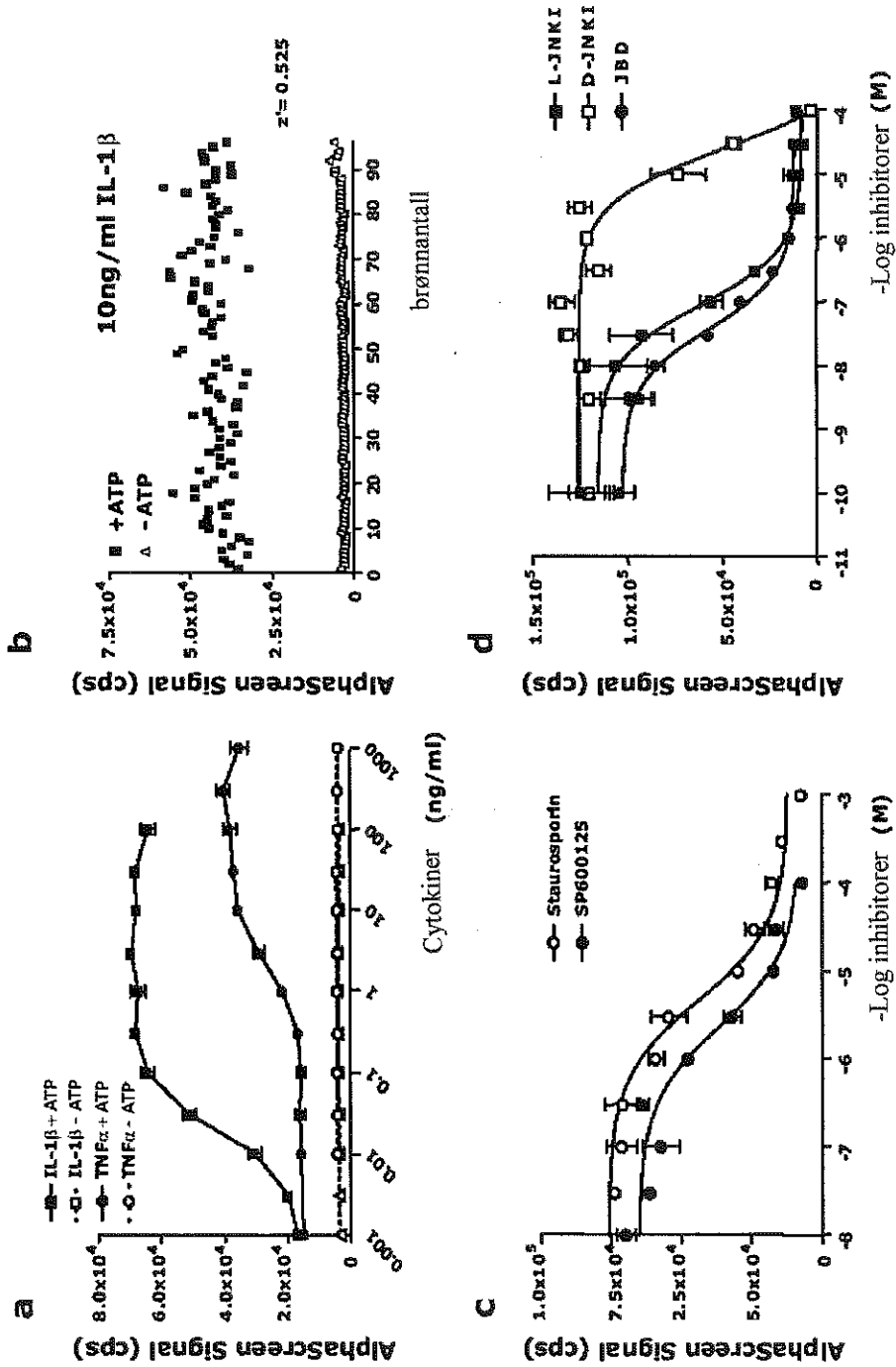


Fig. 3

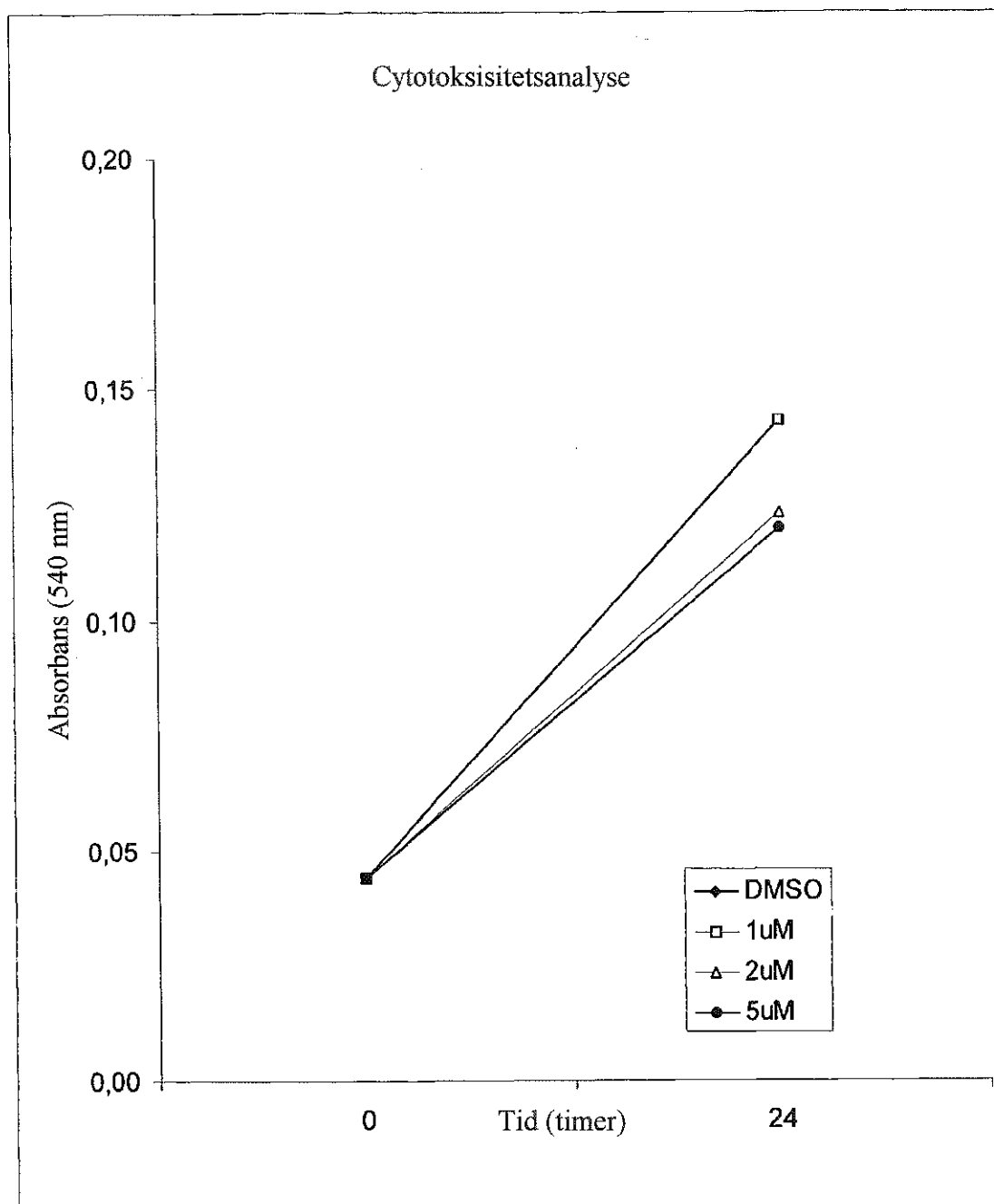


Fig. 4

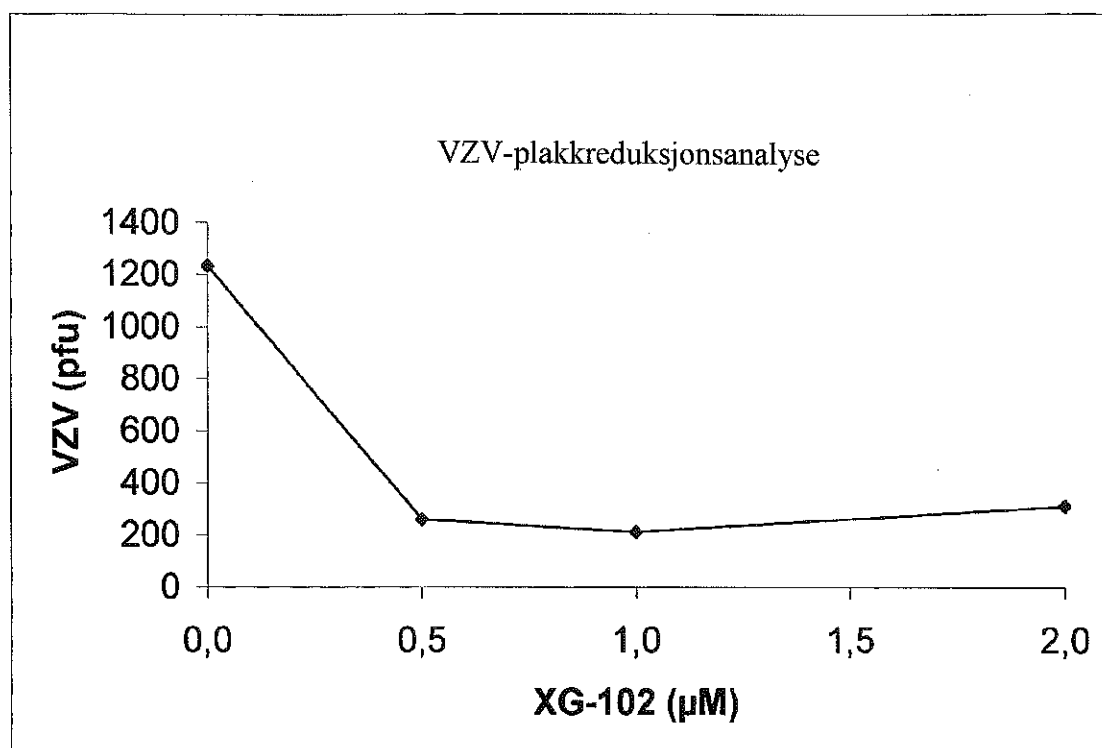


Fig. 5

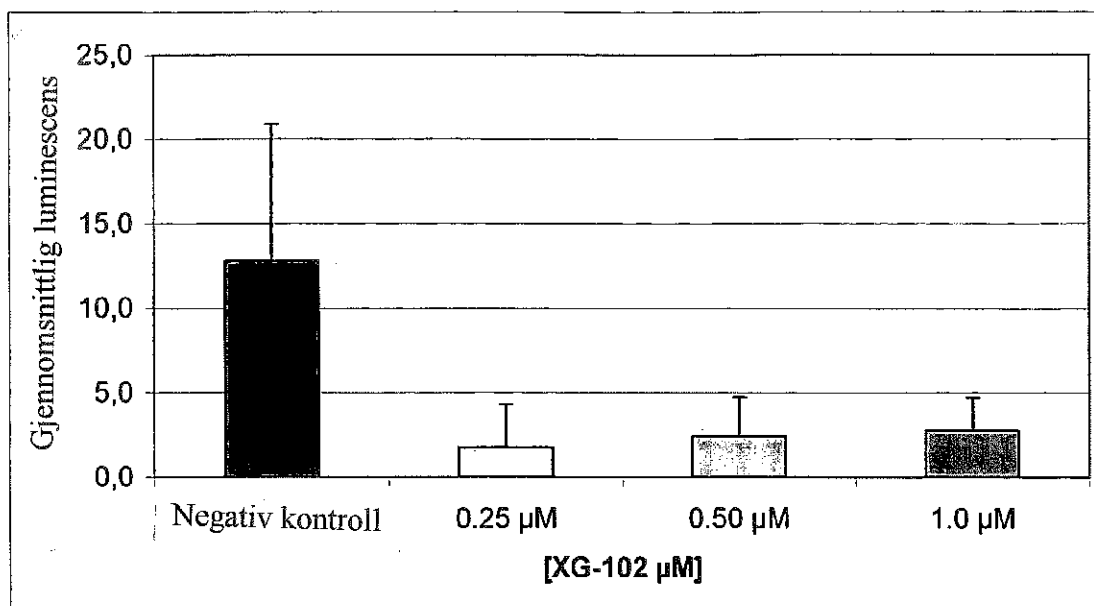


Fig. 6

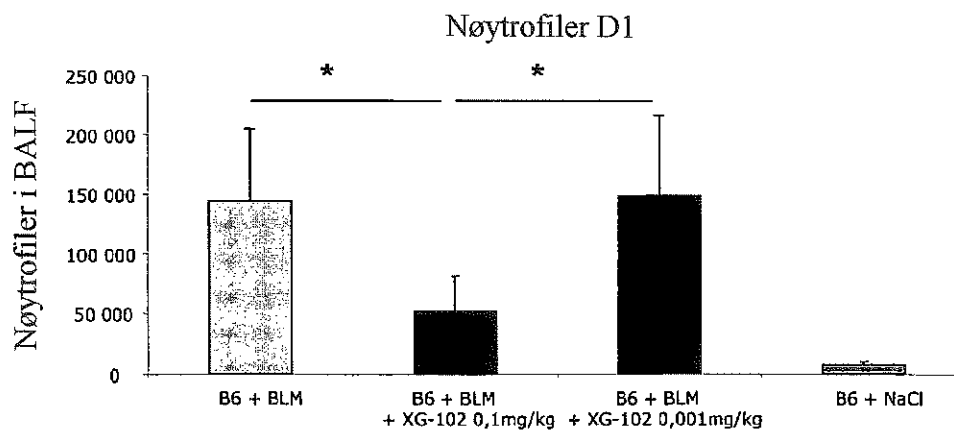
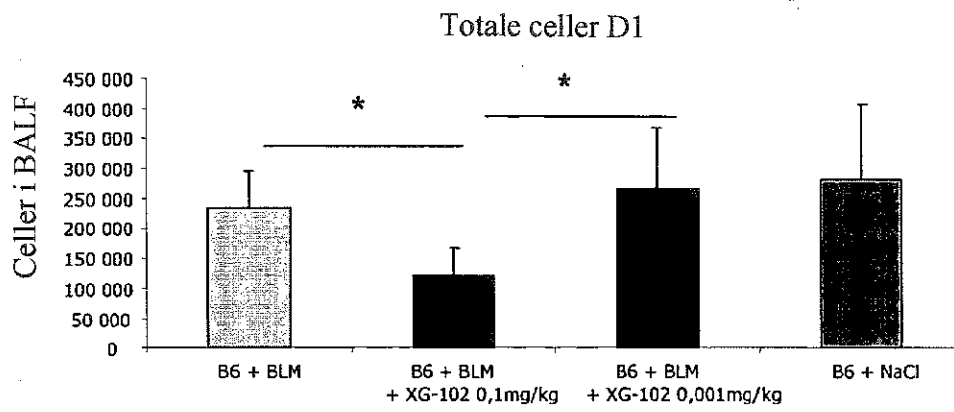
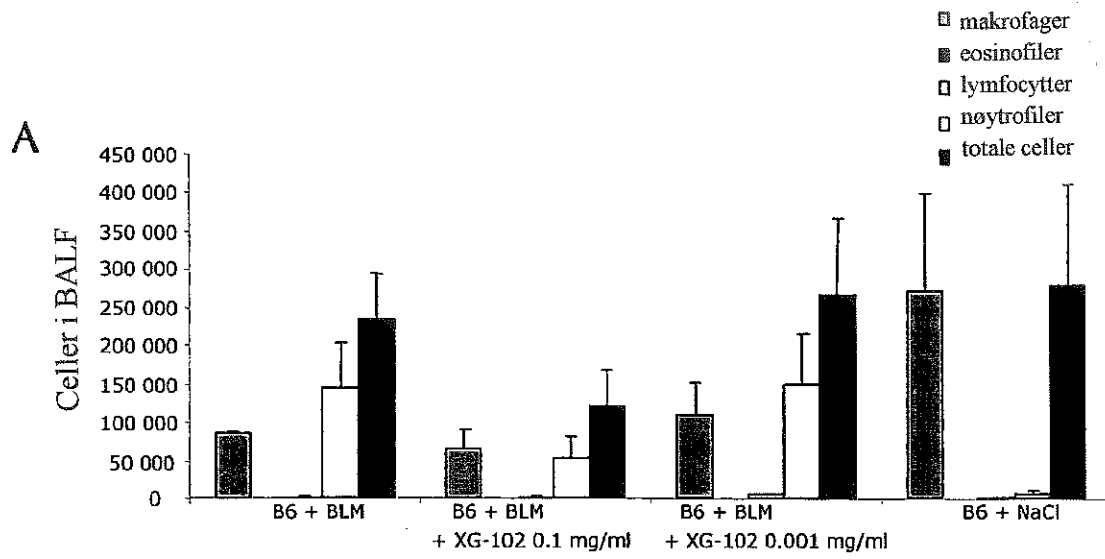


Fig. 7

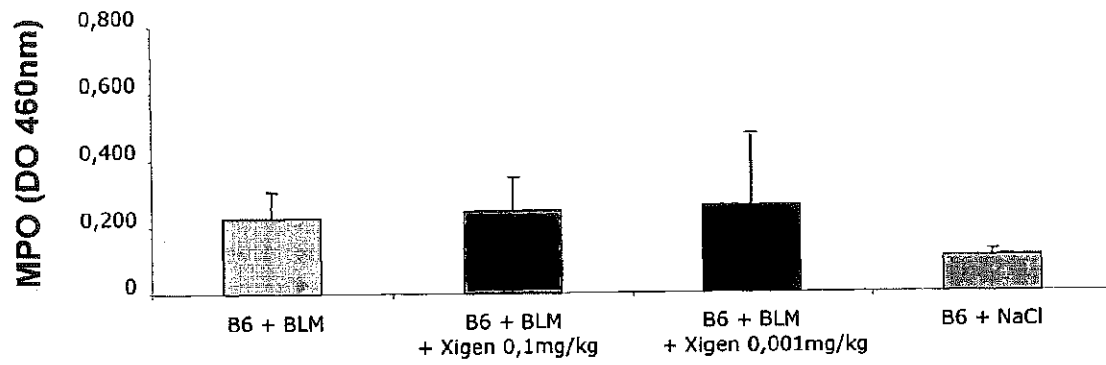


Fig. 8

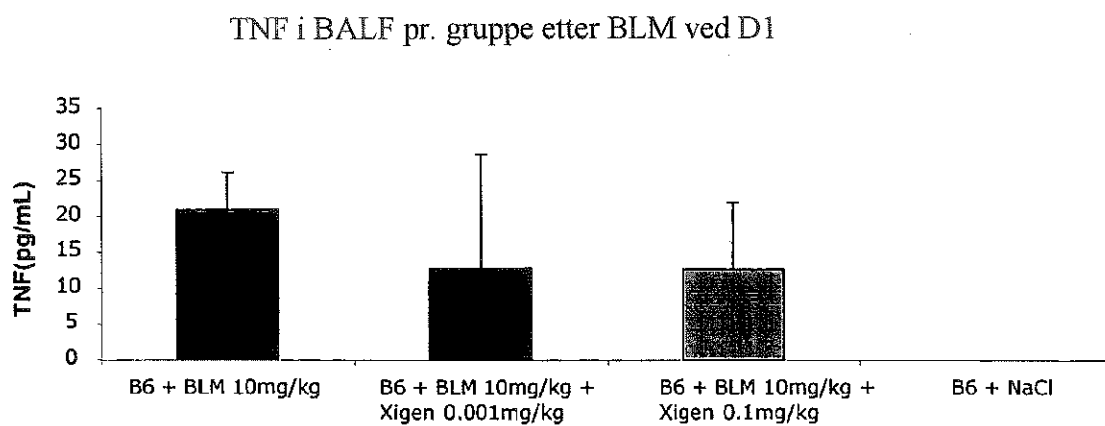


Fig. 9

A

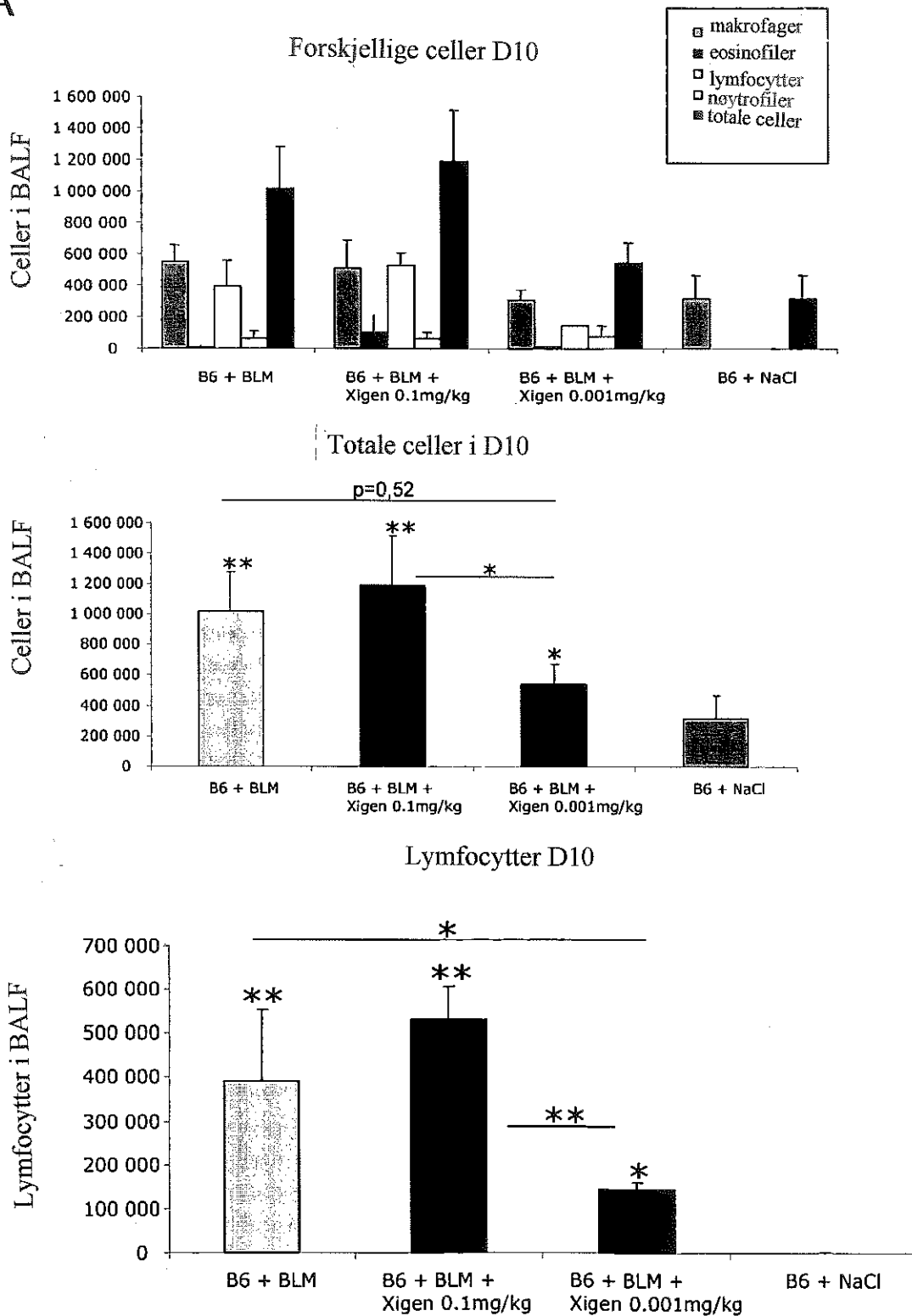


Fig. 10

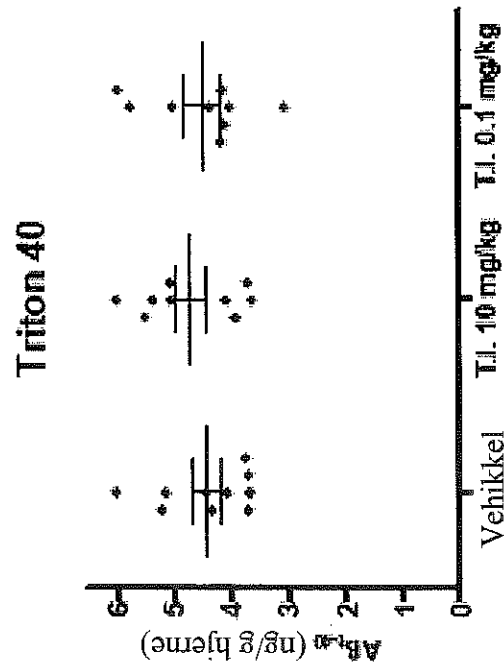
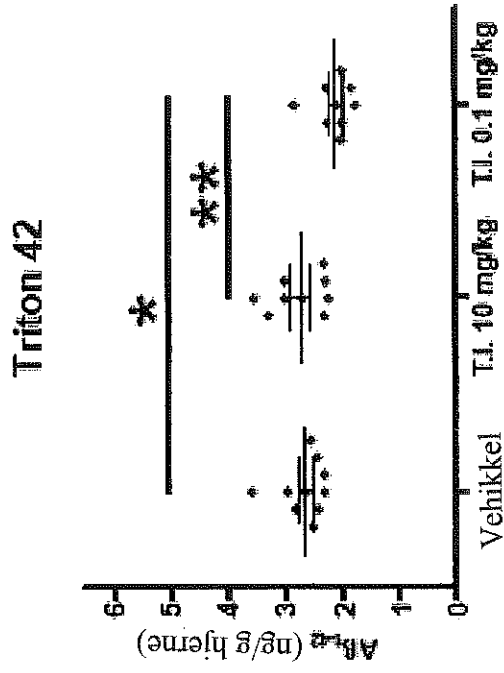


Fig. 11

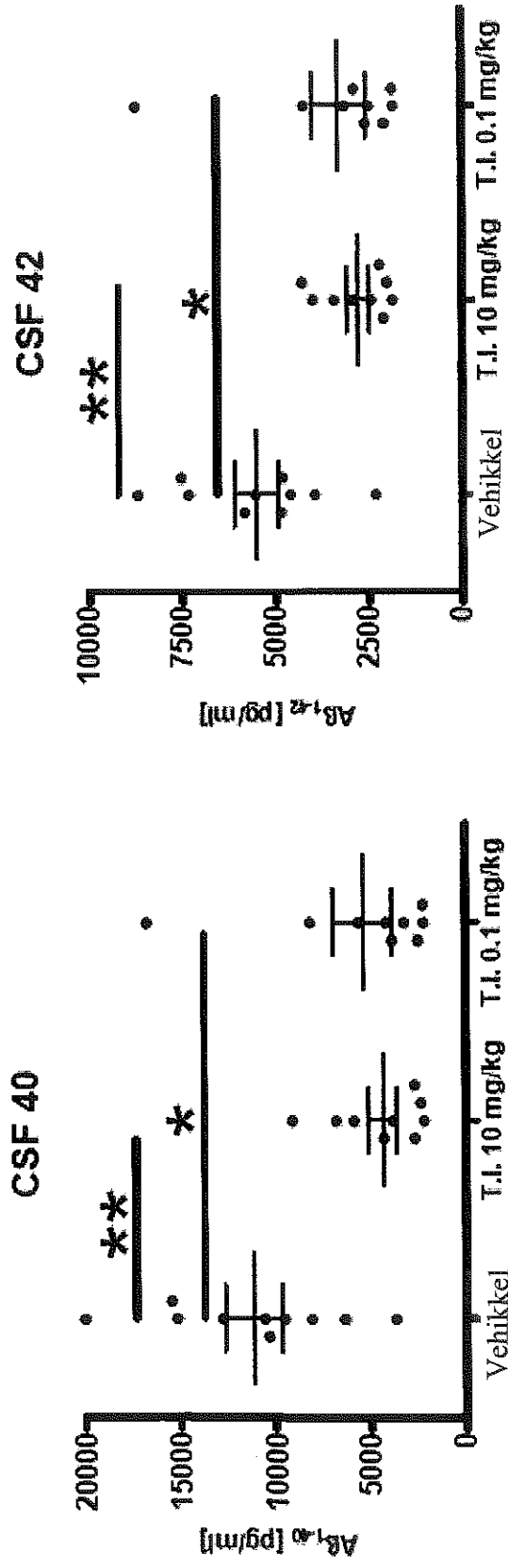


Fig. 12

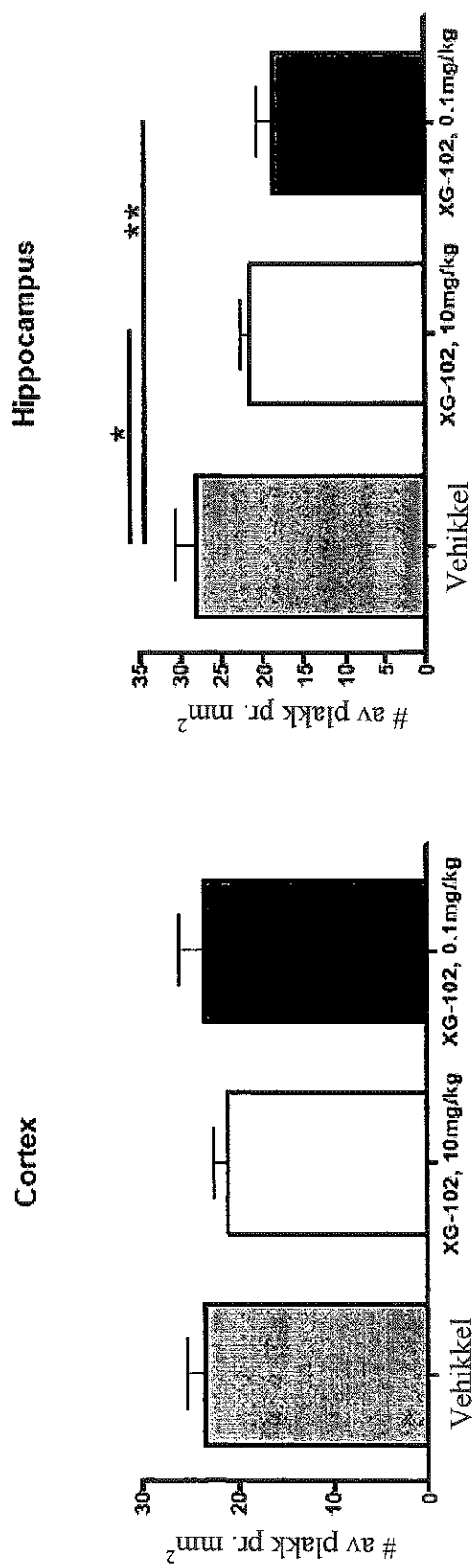


Fig. 13

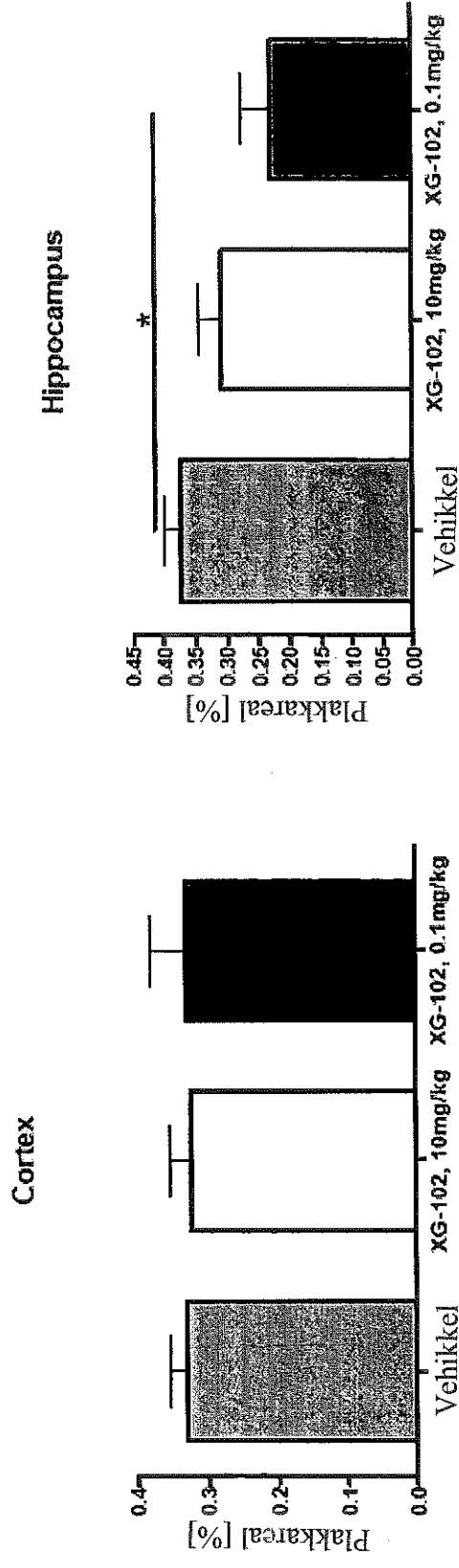


Fig. 14

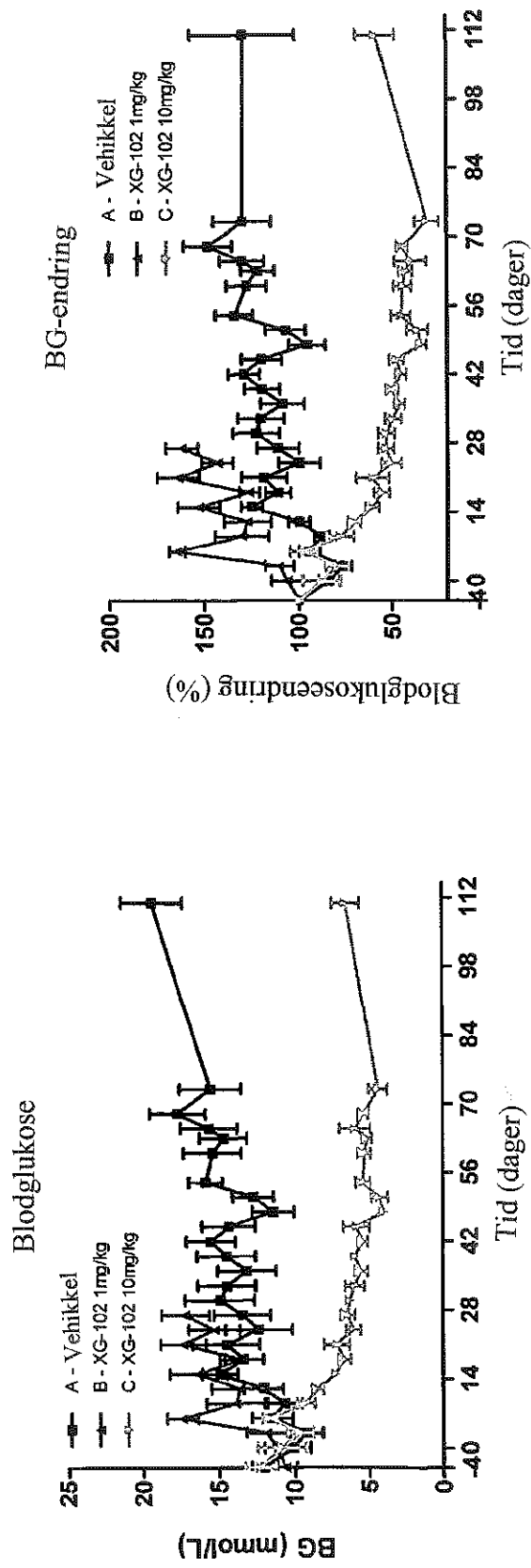


Fig. 15

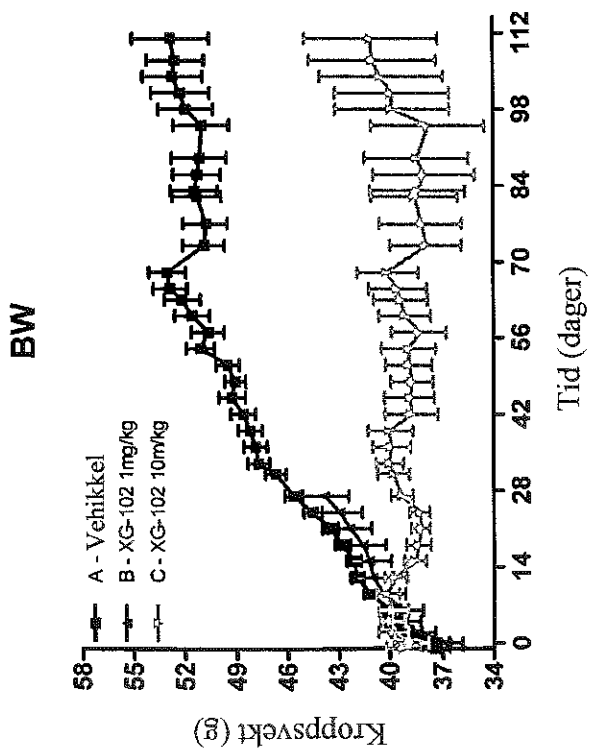
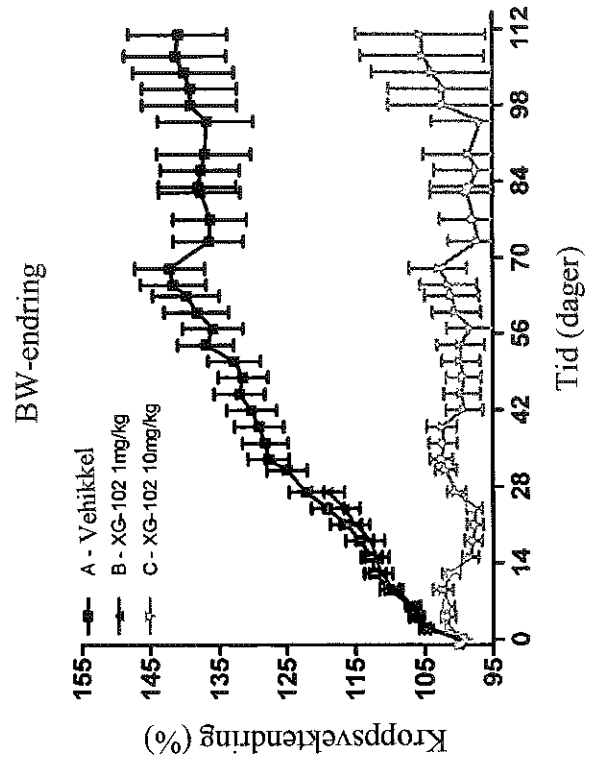


Fig. 16

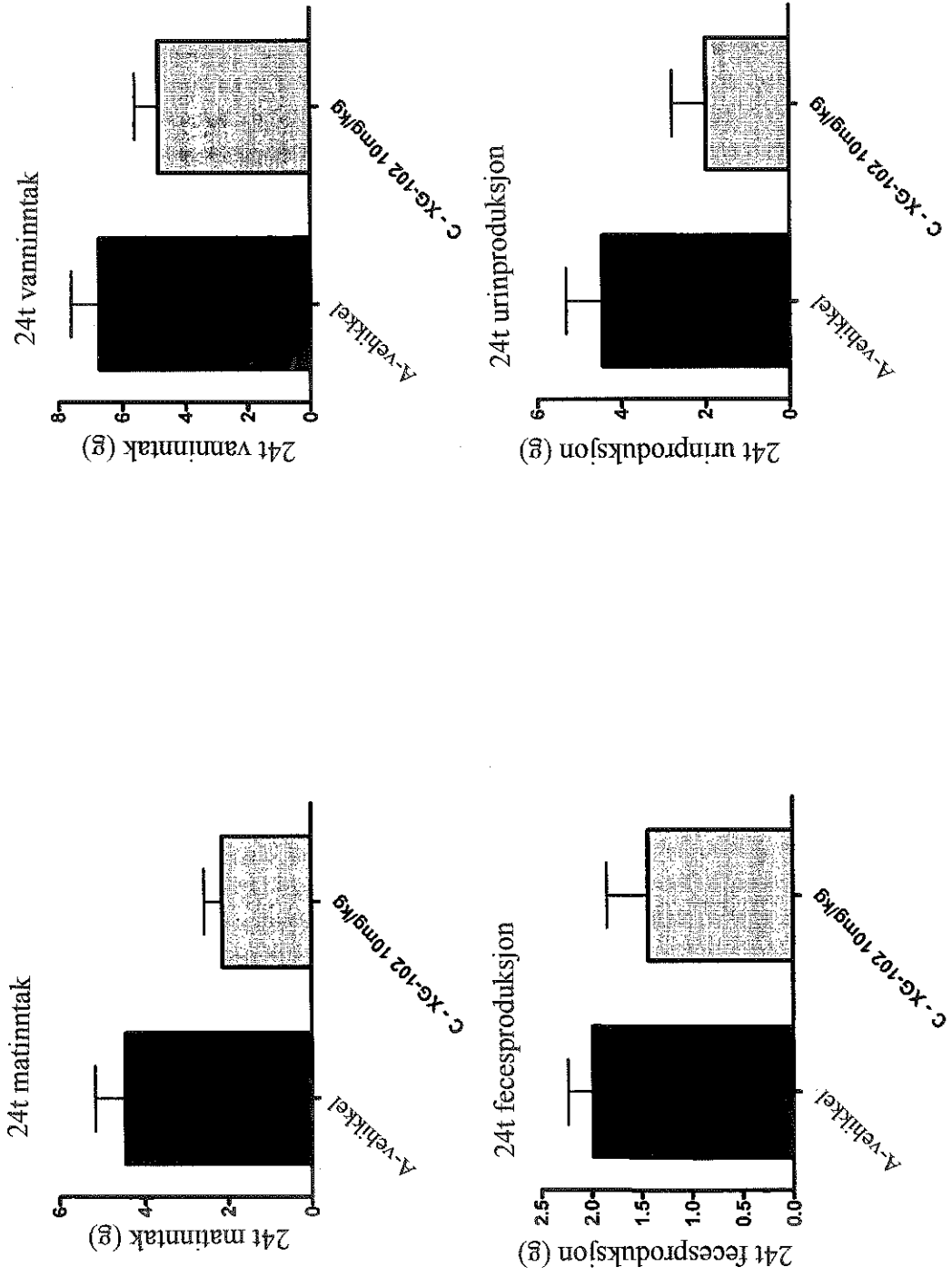


Fig. 17

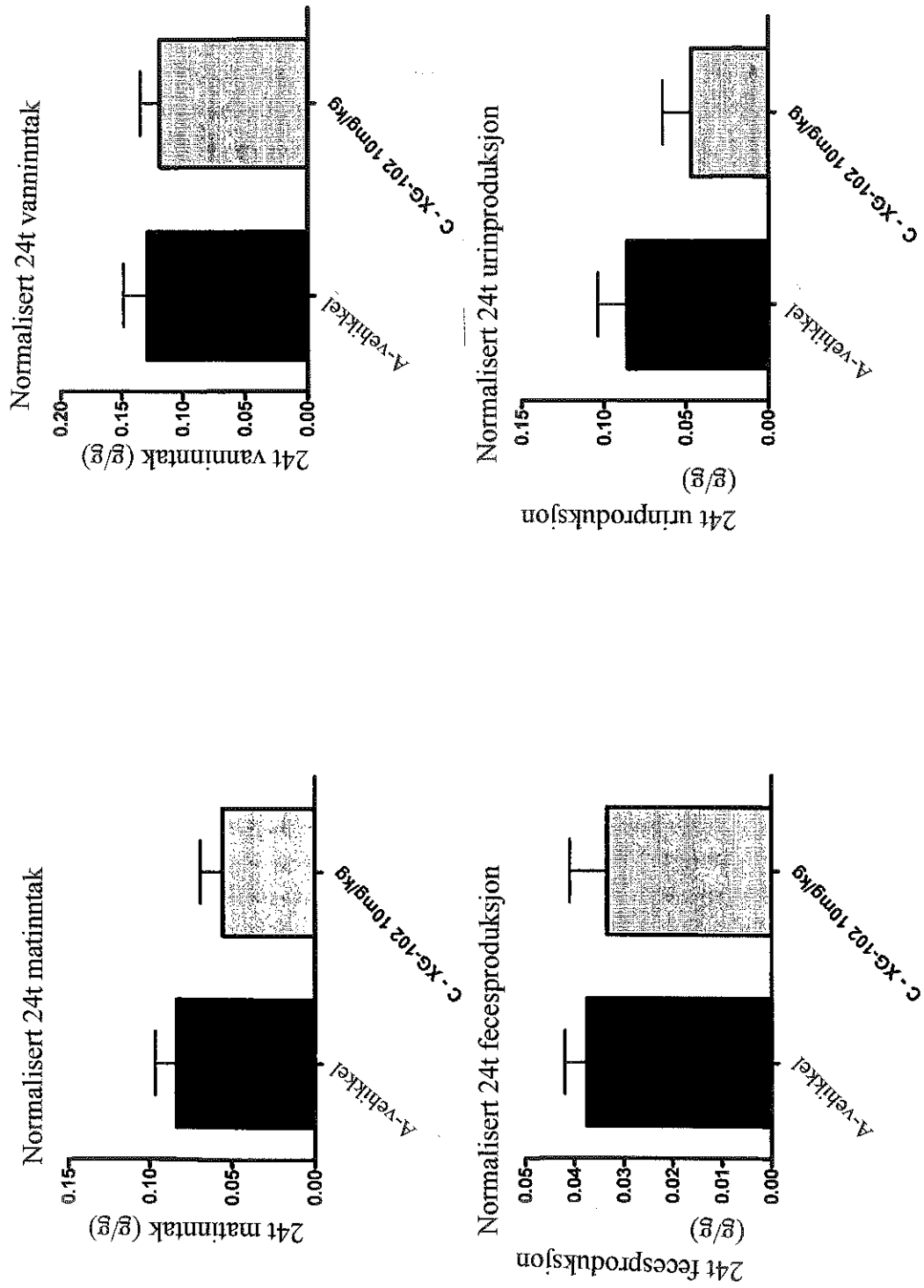


Fig. 18

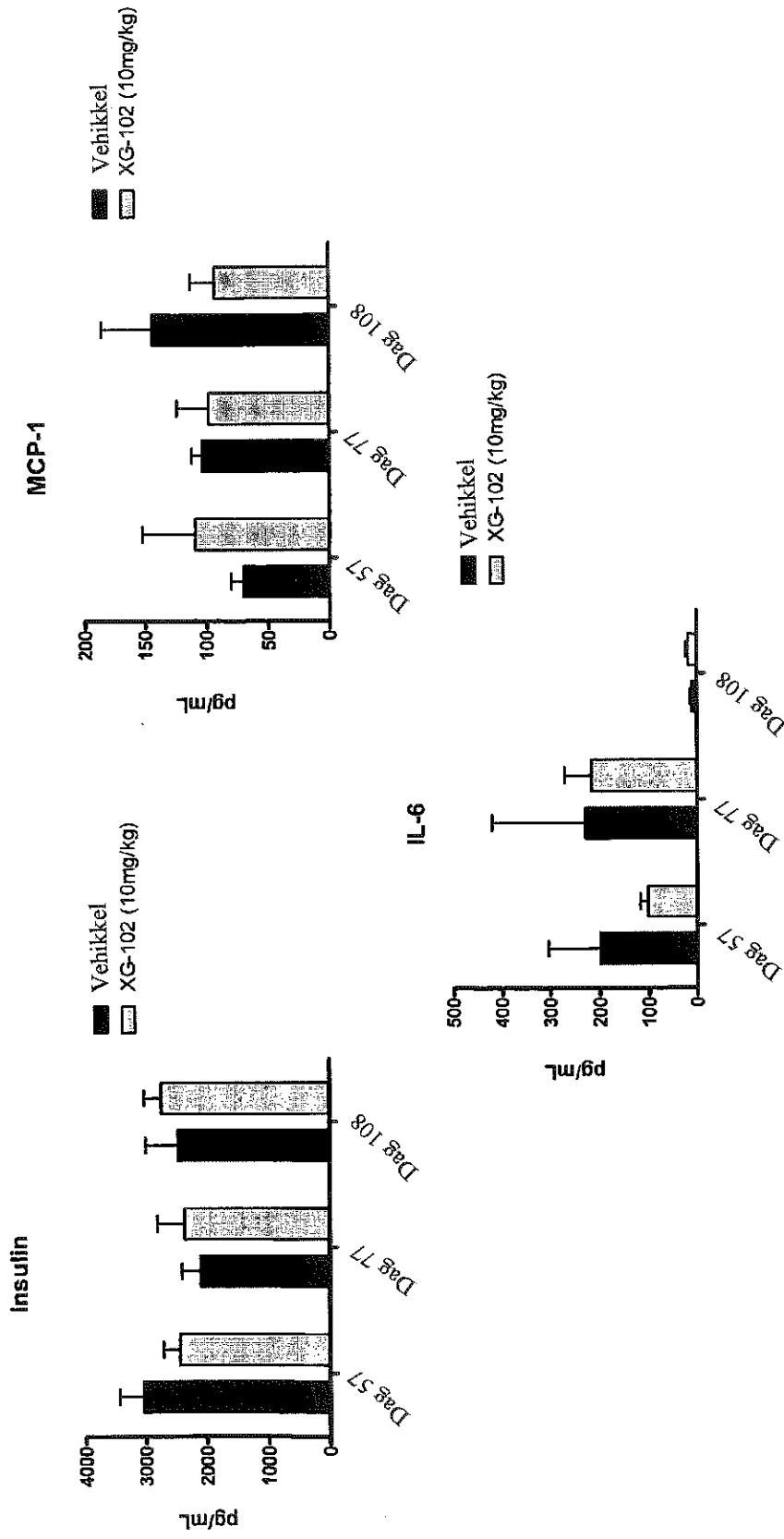


Fig. 19

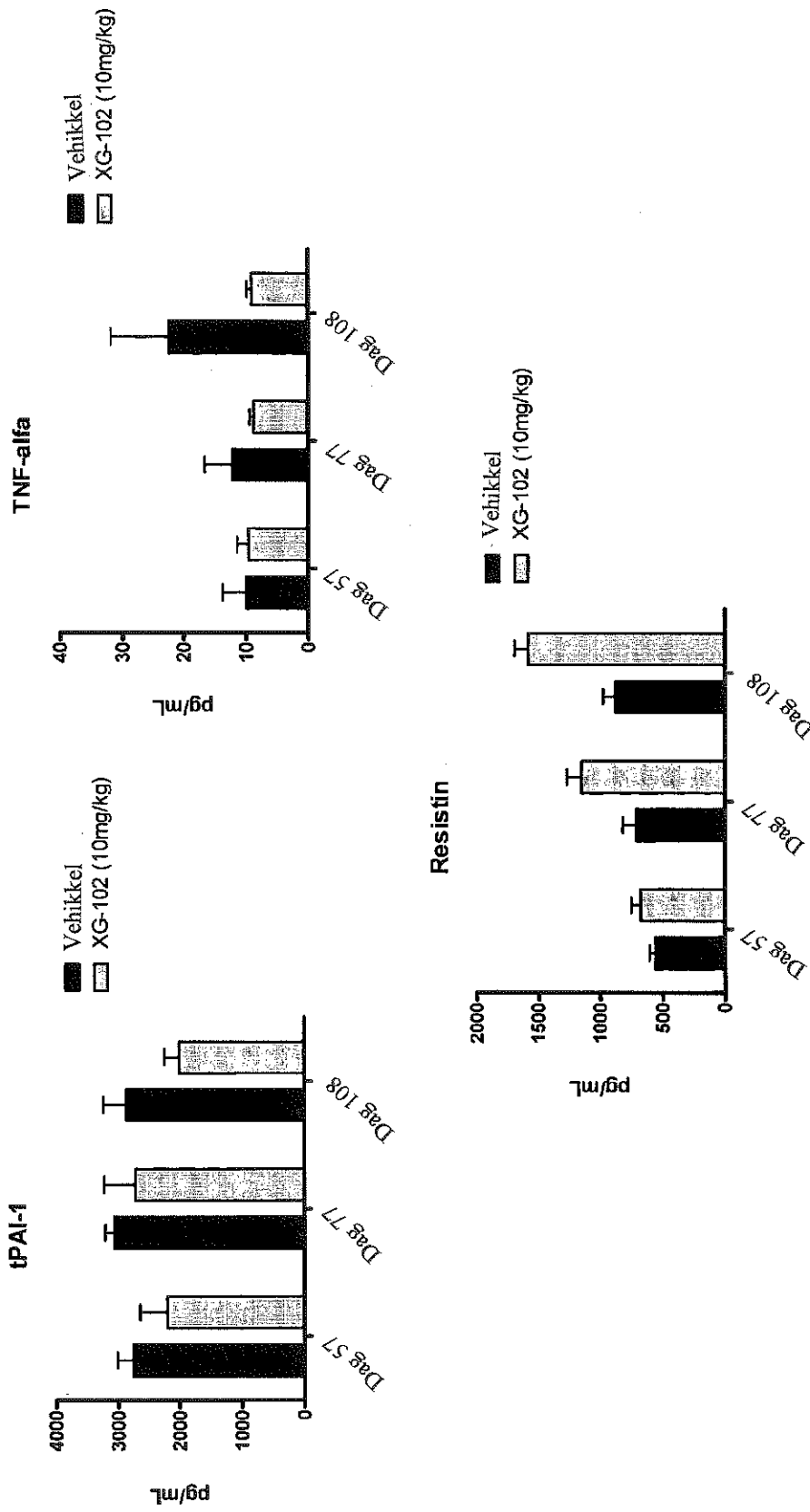


Fig. 20

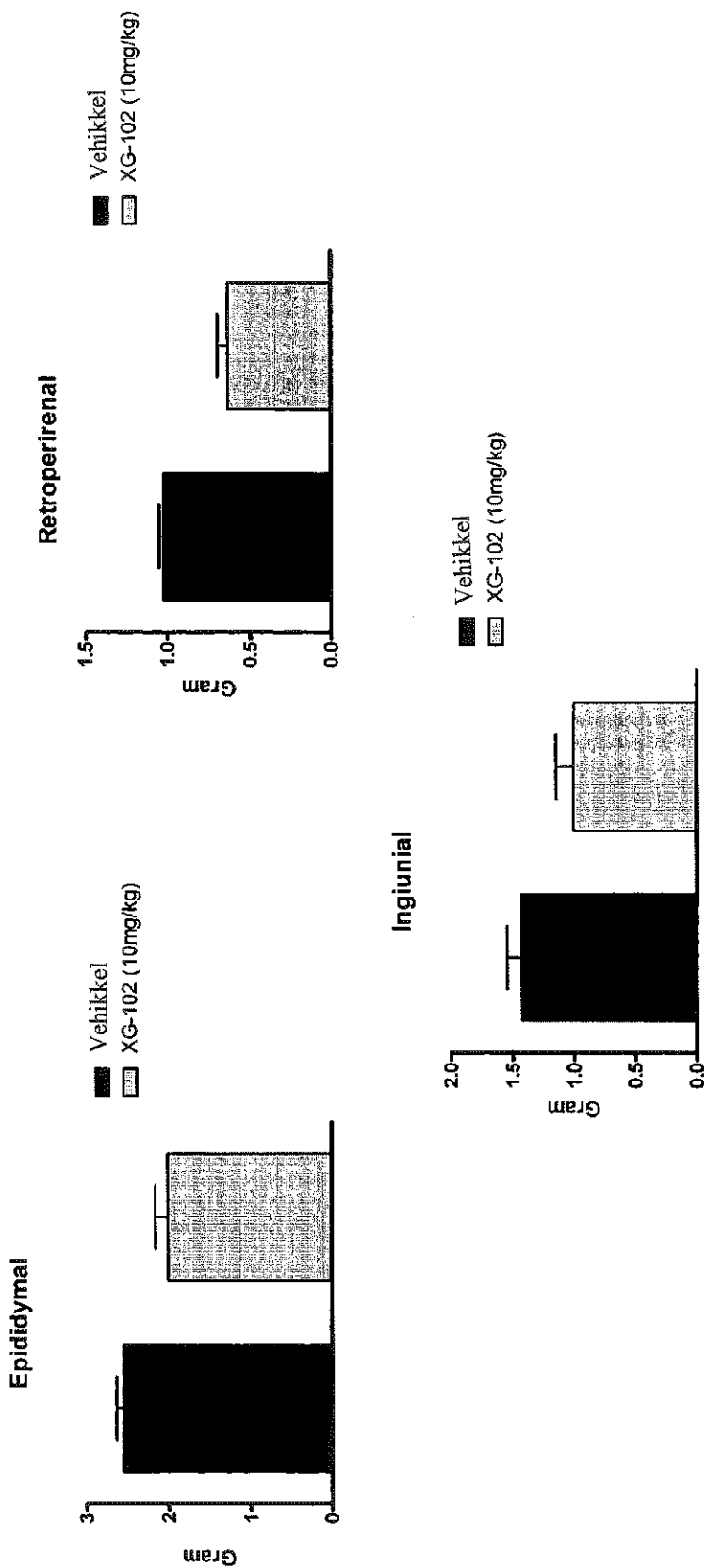


Fig. 21

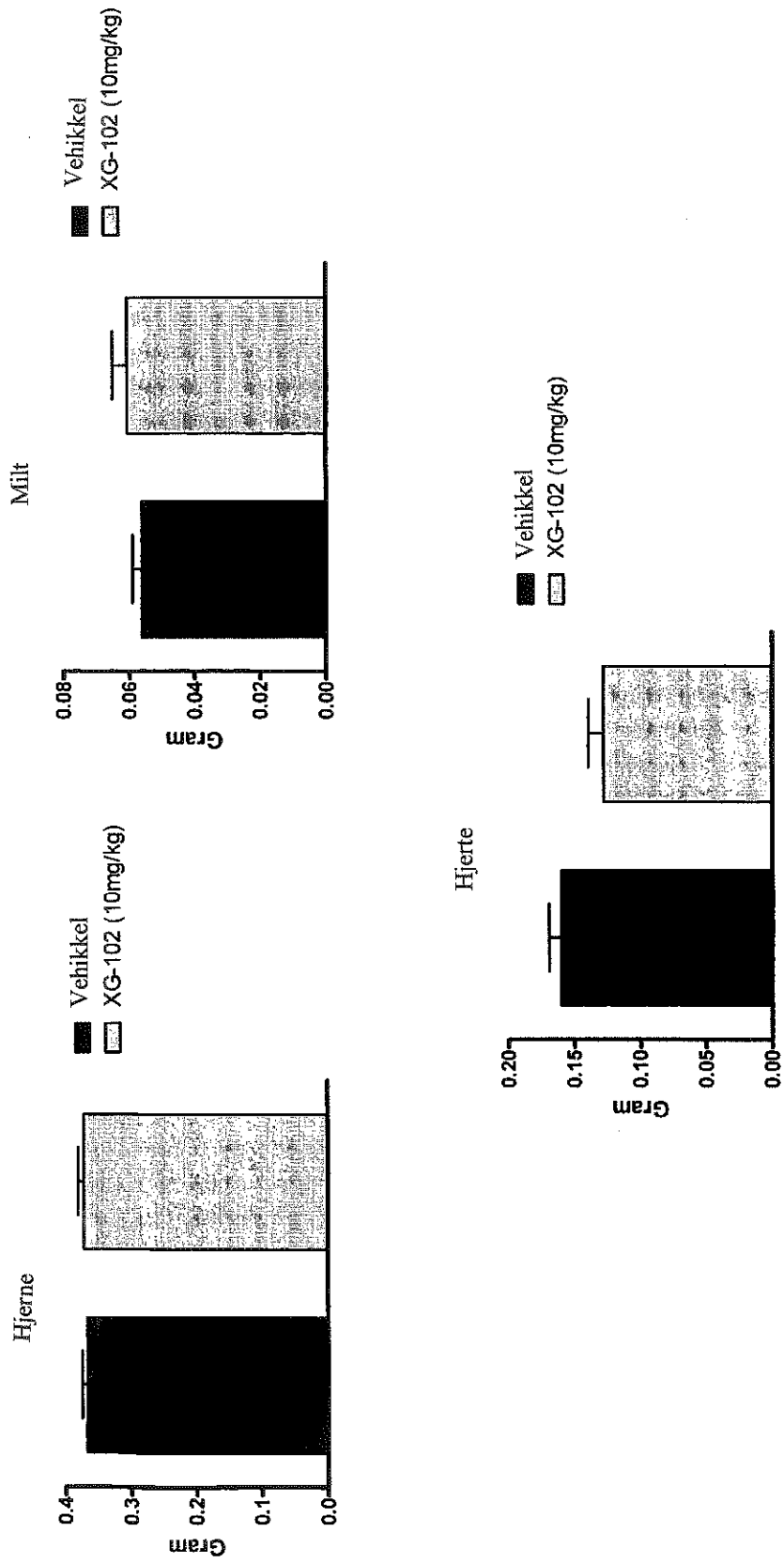


Fig. 22

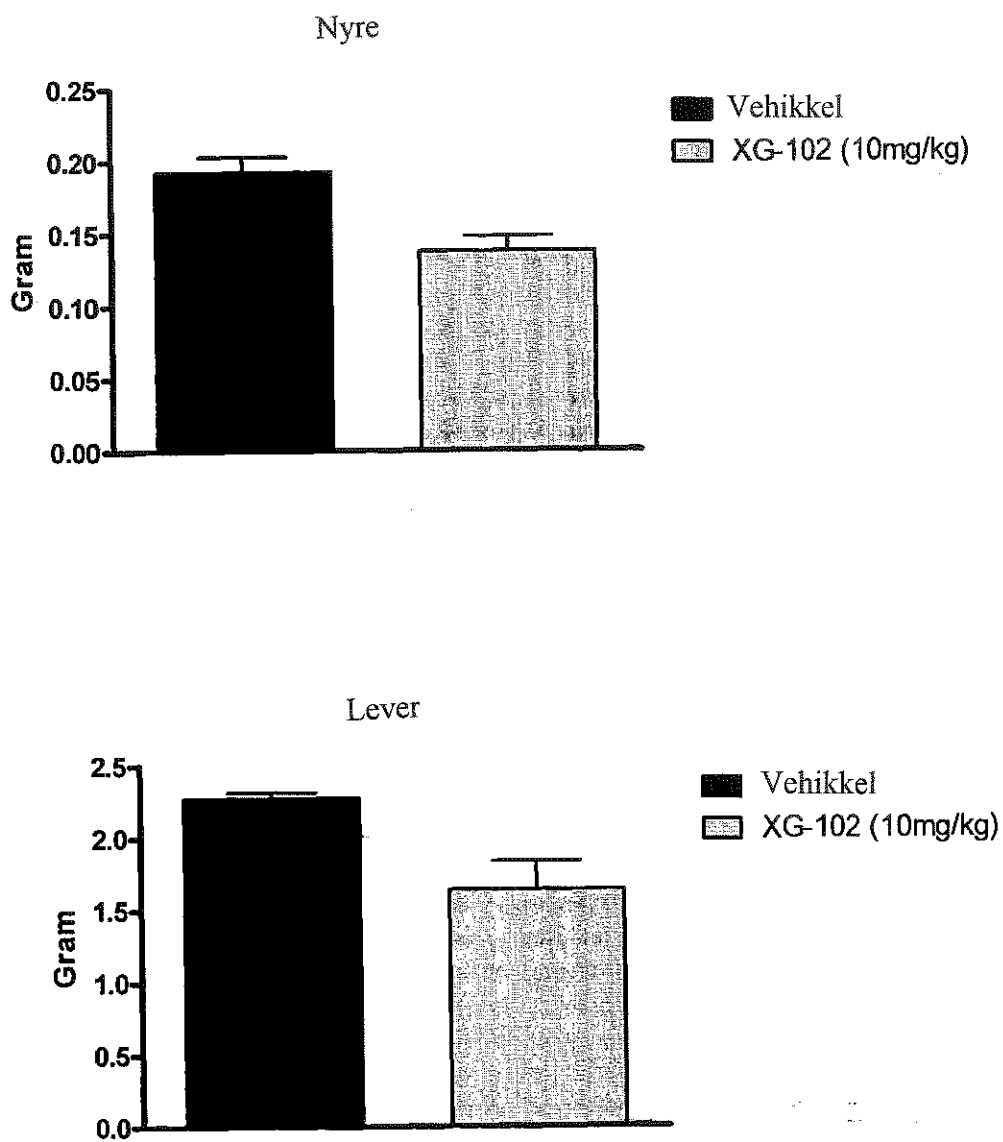


Fig. 23

Makrofag



DMEM-kontroll



XG-102

Fig. 24

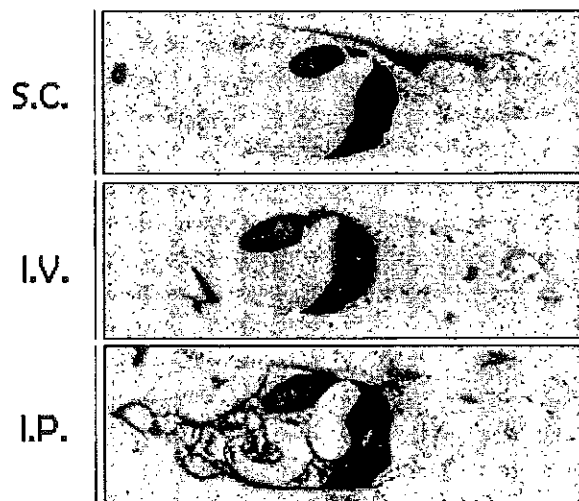
^{14}C -XG-102

Fig. 25



XG-102, 1mg/kg iv, rat (40x)

CTL

Fig. 26

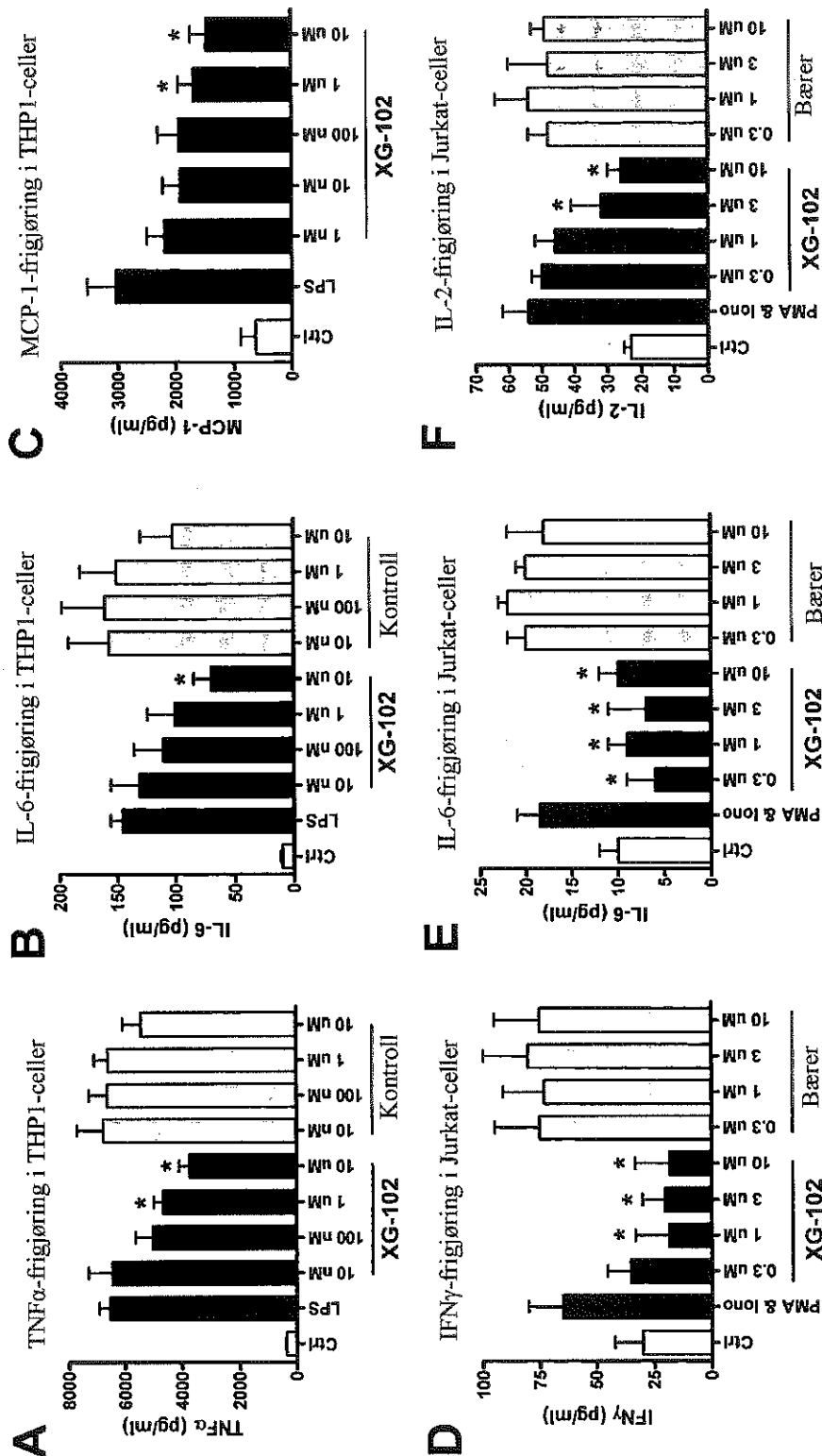


Fig. 27

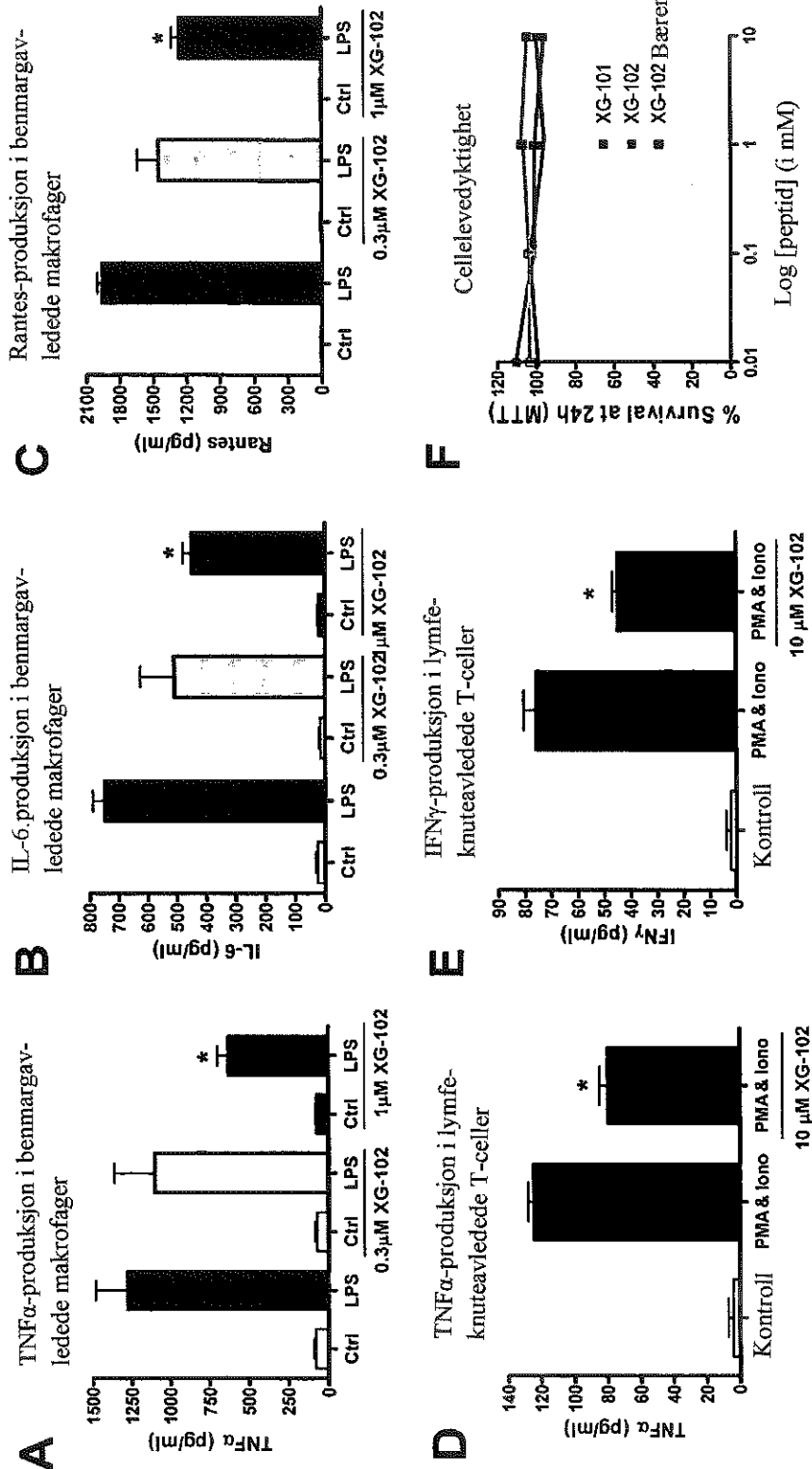


Fig. 28

ccgccccagc tcagtccgaa ccccggggcg gcgccggcct cctccacacg cctccacctc	60
cgccgccgcc gccgccgcc cgccctccc cgccgctctc cgccccgatg gccaggctga	120
gccccggaat ggccggagcga gagagcggcc tgagcggggg tgcccgctcc ccaccggccg	180
cttccccatt cctgggactg cacatcgcgt cgcccccac tttcaggctc acctatgata	240
tcagcctgga ggagtttgag gatgaagacc tttcggagat cactgatgag tgtggcatca	300
gcctgcagtg caaagacacc ttgtctctcc ggcccccgcg cgccgggcta ctgtctgcgg	360
gtagcagcgg tagcgcgggg agccggctgc aggcggagat gctgcagatg gacctgatcg	420
acgcggcaag tgacactccg ggcgcccagg acgacgaaga ggacgacgac gagctcgcctg	480
cccaacggcc aggagtgggg cttccaaag ccgagtctgg ccaggagccg gcgtctcgca	540
gccagggctca gggccagggc cccggcacag gctgcggaga cacctaccgg cccaagaggc	600
ctaccacgct caacctttc ccgaggtgc cgcggtctca ggacacgctg aataataact	660
ctttaggcaa aaagcacagt tggcaggacc gtgtgtctcg atcatcctcc cctctgaaga	720
caggggagca gacgcctcca catgaacata tctgcctgag tgatgagctg ccgccccagg	780
gcagtctgtg tcccaccag gatcgtgga cttccaccga cagcccttgt cgccgtactg	840
cagccacca gatggcacct ccaagtggc cccctgccac tgcacctggt ggccggggcc	900
actcccacg agatcggctc atatcagcag atgtgcccct cgaggcgact gaggagatct	960
acctgacccc agtgcagagg cccccagacc ctgcagaacc cacctccacc ttcttgccac	1020
ccactgagag ccgatgtct gtcagctcgg atcctgacct tgccgcttac tctgtaactg	1080
cagggcgacc gcacccttc atcagtgaag aggatgaggg cttcgactgt ctgtcatccc	1140
cagagcaagc tgagccacca ggtggagggt ggcggggaag cctcggggag ccaccaccgc	1200
ctccacgggc ctactgagc tcggacacca gcgactgtc ctacgactct gtcaagtaca	1260
actggtggt ggatgagcat gccagcttg agttggtgag cctgcggcca tgttttgag	1320
attacagtga cgaaagcagc tctgccactg tctatgacaa ctgtgcctct gcctctcgc	1380
cctacgagtc agccattggt gaggaatatg aggaggccc tcaaccccgg cctcccacct	1440
gcctgtcaga ggactccaca ccgatgagc ctgacgtcca cttctctaag aagtttctga	1500
atgtcttcat gagtggccgc tctcgttct ccagtgccga gtcccttggg ctgttctct	1560
gtgtcatcaa tggggaggag catgagcaaa ccatcgggc tatattcagg tttgtgcctc	1620
ggcatgaaga tgaacttgag ctggaagtgg acgacctct gctggtggag ctgcaggcag	1680

Fig. 29

aagactattg gtatgaggcc tataacatgc gcaactggagc ccgtaggtgtc tttcctgcct	1740
actatgccat tgaggtcacc aaggagcctg agcacatggc agcccttgcc aaaaacagcg	1800
actggattga ccagttccgg gtgaagtcc tgggctcigt ccaggttcct tatcacaagg	1860
gcaatgatgt cctctgtgct gctatgcaaa agatcggcac cacccgccgg ctcaccgtgc	1920
actttaacct gccctccagc tgtgtccttg aaatcagcgt taggggtgtc aagatagggtg	1980
tcaaagctga tgaagctcag gaggccaagg gaaataaatg tagccacttt ttccagctaa	2040
aaaacatctc tttctgtggg taccatccaa agaacaacaa gtactttggg tttatcacta	2100
agcaccctgc tgaccaccgg tttgcctgcc atgtctttgt gtctgaagat tccaccaag	2160
ccctggcaga gtctgtgggg cgtgcatttc agcagttcta caagcaattt gtggaatata	2220
cctgtcctac agaagatata tacttggagt agcagcaacc cccctctctg cagccccctca	2280
gccccaggcc agtactagga cagctgactg ctgacaggat gttgtactgc cacgagagaa	2340
tgggggagtg agggctgttg gggtcggggg gcaggggttt ggggagaggc agatgcagtt	2400
tattgtaata tatggggtta gattaatcta tggaggacag tacaggctct ctcggggctg	2460
gggaagggca gggctggggg gggggtcagg catctggcca caaaggggtc ccctagggac	2520
agaggcctg caccatcctg ggcttgtttc atactagagg ccctggcttt ctggctcttg	2580
ggtcctgcct tgacaaagcc cagccacctg gaagtgtcac cttcccttgt ccacctcacc	2640
cagtgcctg agctcatgct gagccaagc acctccgaag gactttccag taaggaaatg	2700
gcaacatgtg acagtgagac cctgttctca tctgtggggc tccggcagct ccgaccccca	2760
gcctggccag cacgctgacc ctggcaagct tgtgtgttca aagaaggaga gggccacagc	2820
aagccctgcc tgccagggaa ggttccctct cagctggccc cagccaactg gtcactgtct	2880
tgtcacctgg ctactactat taaagtcca tttcttgtct gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	2940
aaaaaaaaactc gag	2953

Fig. 29 (forts.)

Met Ala Arg Leu Ser Pro Gly Met Ala Glu Arg Glu Ser Gly Leu Ser
 1 5 10 15
 Gly Gly Ala Ala Ser Pro Pro Ala Ala Ser Pro Phe Leu Gly Leu His
 20 25 30
 Ile Ala Ser Pro Pro Asn Phe Arg Leu Thr His Asp Ile Ser Leu Glu
 35 40 45
 Glu Phe Glu Asp Glu Asp Leu Ser Glu Ile Thr Asp Glu Cys Gly Ile
 50 55 60
 Ser Leu Gln Cys Lys Asp Thr Leu Ser Leu Arg Pro Pro Arg Ala Gly
 65 70 75 80
 Leu Leu Ser Ala Gly Ser Ser Gly Ser Ala Gly Ser Arg Leu Gln Ala
 85 90 95
 Glu Met Leu Gln Met Asp Leu Ile Asp Ala Ala Ser Asp Thr Pro Gly
 100 105 110
 Ala Glu Asp Asp Glu Glu Asp Asp Asp Glu Leu Ala Ala Gln Arg Pro
 115 120 125
 Gly Val Gly Pro Ser Lys Ala Glu Ser Gly Gln Glu Pro Ala Ser Arg
 130 135 140
 Ser Gln Gly Gln Gly Gln Gly Pro Gly Thr Gly Cys Gly Asp Thr Tyr
 145 150 155 160
 Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg
 165 170 175
 Ser Gln Asp Thr Leu Asn Asn Asn Ser Leu Gly Lys Lys His Ser Trp
 180 185 190
 Gln Asp Arg Val Ser Arg Ser Ser Ser Pro Leu Lys Thr Gly Glu Gln
 195 200 205
 Thr Pro Pro His Glu His Ile Cys Leu Ser Asp Glu Leu Pro Pro Gln
 210 215 220
 Gly Ser Pro Val Pro Thr Gln Asp Arg Gly Thr Ser Thr Asp Ser Pro
 225 230 235 240
 Cys Arg Arg Thr Ala Ala Thr Gln Met Ala Pro Pro Ser Gly Pro Pro
 245 250 255

Fig. 30

Ala Thr Ala Pro Gly Gly Arg Gly His Ser His Arg Asp Arg Ser Ile
 260 265 270

Ser Ala Asp Val Arg Leu Glu Ala Thr Glu Glu Ile Tyr Leu Thr Pro
 275 280 285

Val Gln Arg Pro Pro Asp Pro Ala Glu Pro Thr Ser Thr Phe Leu Pro
 290 295 300

Pro Thr Glu Ser Arg Met Ser Val Ser Ser Asp Pro Asp Pro Ala Ala
 305 310 315 320

Tyr Ser Val Thr Ala Gly Arg Pro His Pro Ser Ile Ser Glu Glu Asp
 325 330 335

Glu Gly Phe Asp Cys Leu Ser Ser Pro Glu Gln Ala Glu Pro Pro Gly
 340 345 350

Gly Gly Trp Arg Gly Ser Leu Gly Glu Pro Pro Pro Pro Pro Arg Ala
 355 360 365

Ser Leu Ser Ser Asp Thr Ser Ala Leu Ser Tyr Asp Ser Val Lys Tyr
 370 375 380

Thr Leu Val Val Asp Glu His Ala Gln Leu Glu Leu Val Ser Leu Arg
 385 390 395 400

Pro Cys Phe Gly Asp Tyr Ser Asp Glu Ser Asp Ser Ala Thr Val Tyr
 405 410 415

Asp Asn Cys Ala Ser Ala Ser Ser Pro Tyr Glu Ser Ala Ile Gly Glu
 420 425 430

Glu Tyr Glu Glu Ala Pro Gln Pro Arg Pro Pro Thr Cys Leu Ser Glu
 435 440 445

Asp Ser Thr Pro Asp Glu Pro Asp Val His Phe Ser Lys Lys Phe Leu
 450 455 460

Asn Val Phe Met Ser Gly Arg Ser Arg Ser Ser Ser Ala Glu Ser Phe
 465 470 475 480

Gly Leu Phe Ser Cys Val Ile Asn Gly Glu Glu His Glu Gln Thr His
 485 490 495

Arg Ala Ile Phe Arg Phe Val Pro Arg His Glu Asp Glu Leu Glu Leu
 500 505 510

Fig. 30 (forts.)

Glu Val Asp Asp Pro Leu Leu Val Glu Leu Gln Ala Glu Asp Tyr Trp
 515 520 525

Tyr Glu Ala Tyr Asn Met Arg Thr Gly Ala Arg Gly Val Phe Pro Ala
 530 535 540

Tyr Tyr Ala Ile Glu Val Thr Lys Glu Pro Glu His Met Ala Ala Leu
 545 550 555 560

Ala Lys Asn Ser Asp Trp Ile Asp Gln Phe Arg Val Lys Phe Leu Gly
 565 570 575

Ser Val Gln Val Pro Tyr His Lys Gly Asn Asp Val Leu Cys Ala Ala
 580 585 590

Met Gln Lys Ile Ala Thr Thr Arg Arg Leu Thr Val His Phe Asn Pro
 595 600 605

Pro Ser Ser Cys Val Leu Glu Ile Ser Val Arg Gly Val Lys Ile Gly
 610 615 620

Val Lys Ala Asp Glu Ala Gln Glu Ala Lys Gly Asn Lys Cys Ser His
 625 630 635 640

Phe Phe Gln Leu Lys Asn Ile Ser Phe Cys Gly Tyr His Pro Lys Asn
 645 650 655

Asn Lys Tyr Phe Gly Phe Ile Thr Lys His Pro Ala Asp His Arg Phe
 660 665 670

Ala Cys His Val Phe Val Ser Glu Asp Ser Thr Lys Ala Leu Ala Glu
 675 680 685

Ser Val Gly Arg Ala Phe Gln Gln Phe Tyr Lys Gln Phe Val Glu Tyr
 690 695 700

Thr Cys Pro Thr Glu Asp Ile Tyr Leu Glu
 705 710

Fig. 30 (forts.)

Met Ala Glu Arg Glu Ser Gly Gly Leu Gly Gly Gly Ala Ala Ser Pro
 1 5 10 15
 Pro Ala Ala Ser Pro Phe Leu Gly Leu His Ile Ala Ser Pro Pro Asn
 20 25 30
 Phe Arg Leu Thr His Asp Ile Ser Leu Glu Glu Phe Glu Asp Glu Asp
 35 40 45
 Leu Ser Glu Ile Thr Asp Glu Cys Gly Ile Ser Leu Gln Cys Lys Asp
 50 55 60
 Thr Leu Ser Leu Arg Pro Pro Arg Ala Gly Leu Leu Ser Ala Gly Gly
 65 70 75 80
 Gly Gly Ala Gly Ser Arg Leu Gln Ala Glu Met Leu Gln Met Asp Leu
 85 90 95
 Ile Asp Ala Thr Gly Asp Thr Pro Gly Ala Glu Asp Asp Glu Glu Asp
 100 105 110
 Asp Asp Glu Glu Arg Ala Ala Arg Arg Pro Gly Ala Gly Pro Pro Lys
 115 120 125
 Ala Glu Ser Gly Gln Glu Pro Ala Ser Arg Gly Gln Gly Gln Ser Gln
 130 135 140
 Gly Gln Ser Gln Gly Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Arg Pro Lys Arg
 145 150 155 160
 Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp Thr
 165 170 175
 Leu Asn Asn Asn Ser Leu Gly Lys Lys His Ser Trp Gln Asp Arg Val
 180 185 190
 Ser Arg Ser Ser Ser Pro Leu Lys Thr Gly Glu Gln Thr Pro Pro His
 195 200 205
 Glu His Ile Cys Leu Ser Asp Glu Leu Pro Pro Gln Ser Gly Pro Ala
 210 215 220
 Pro Thr Thr Asp Arg Gly Thr Ser Thr Asp Ser Pro Cys Arg Arg Ser
 225 230 235 240
 Thr Ala Thr Gln Met Ala Pro Pro Gly Gly Pro Pro Ala Ala Pro Pro
 245 250 255

Fig. 31

Gly Gly Arg Gly His Ser His Arg Asp Arg Ile His Tyr Gln Ala Asp
 260 265 270

Val Arg Leu Glu Ala Thr Glu Glu Ile Tyr Leu Thr Pro Val Gln Arg
 275 280 285

Pro Pro Asp Ala Ala Glu Pro Thr Ser Ala Phe Leu Pro Pro Thr Glu
 290 295 300

Ser Arg Met Ser Val Ser Ser Asp Pro Asp Pro Ala Ala Tyr Pro Ser
 305 310 315 320

Thr Ala Gly Arg Pro His Pro Ser Ile Ser Glu Glu Glu Glu Gly Phe
 325 330 335

Asp Cys Leu Ser Ser Pro Glu Arg Ala Glu Pro Pro Gly Gly Gly Trp
 340 345 350

Arg Gly Ser Leu Gly Glu Pro Pro Pro Pro Pro Arg Ala Ser Leu Ser
 355 360 365

Ser Asp Thr Ser Ala Leu Ser Tyr Asp Ser Val Lys Tyr Thr Leu Val
 370 375 380

Val Asp Glu His Ala Gln Leu Glu Leu Val Ser Leu Arg Pro Cys Phe
 385 390 395 400

Gly Asp Tyr Ser Asp Glu Ser Asp Ser Ala Thr Val Tyr Asp Asn Cys
 405 410 415

Ala Ser Val Ser Ser Pro Tyr Glu Ser Ala Ile Gly Glu Glu Tyr Glu
 420 425 430

Glu Ala Pro Arg Pro Gln Pro Pro Ala Cys Leu Ser Glu Asp Ser Thr
 435 440 445

Pro Asp Glu Pro Asp Val His Phe Ser Lys Lys Phe Leu Asn Val Phe
 450 455 460

Met Ser Gly Arg Ser Arg Ser Ser Ser Ala Glu Ser Phe Gly Leu Phe
 465 470 475 480

Ser Cys Ile Ile Asn Gly Glu Glu Gln Glu Gln Thr His Arg Ala Ile
 485 490 495

Phe Arg Phe Val Pro Arg His Glu Asp Glu Leu Glu Leu Glu Val Asp
 500 505 510

Fig. 31 (forts.)

Asp Pro Leu Leu Val Glu Leu Gln Ala Glu Asp Tyr Trp Tyr Glu Ala
 515 520 525

Tyr Asn Met Arg Thr Gly Ala Arg Gly Val Phe Pro Ala Tyr Tyr Ala
 530 535 540

Ile Glu Val Thr Lys Glu Pro Glu His Met Ala Ala Leu Ala Lys Asn
 545 550 555 560

Ser Asp Trp Val Asp Gln Phe Arg Val Lys Phe Leu Gly Ser Val Gln
 565 570 575

Val Pro Tyr His Lys Gly Asn Asp Val Leu Cys Ala Ala Met Gln Lys
 580 585 590

Ile Ala Thr Thr Arg Arg Leu Thr Val His Phe Asn Pro Pro Ser Ser
 595 600 605

Cys Val Leu Glu Ile Ser Val Arg Gly Val Lys Ile Gly Val Lys Ala
 610 615 620

Asp Asp Ser Gln Glu Ala Lys Gly Asn Lys Cys Ser His Phe Phe Gln
 625 630 635 640

Leu Lys Asn Ile Ser Phe Cys Gly Tyr His Pro Lys Asn Asn Lys Tyr
 645 650 655

Phe Gly Phe Ile Thr Lys His Pro Ala Asp His Arg Phe Ala Cys His
 660 665 670

Val Phe Val Ser Glu Asp Ser Thr Lys Ala Leu Ala Glu Ser Val Gly
 675 680 685

Arg Ala Phe Gln Gln Phe Tyr Lys Gln Phe Val Glu Tyr Thr Cys Pro
 690 695 700

Thr Glu Asp Ile Tyr Leu Glu
 705 710

Fig. 31 (forts.)

atggcggagc gagaaagcgg cggcctggga gggggggccg cgtccccgcc cgccgcctcc	60
ccgttcctgg ggctgcacat cgcttcgcct cccaatttca ggctcaccca tgacatcagc	120
ctggaggagt ttgaggatga agacctctcg gāgatcāctg atgagtgtgg catcagctta	180
cagtgcaaag acacctgtc cttacggccc cegcgcgcc ggctgctctc tgcgggcggc	240
ggcggcgcgg ggagccggtt gcaggccgag atgctgcaga tggacctgat cgacgcgacg	300
ggggacactc ccggggccga ggacgacgag gaggacgacg acgaggagcg cgcggcccgg	360
cggccgggag cggggccgcc caaggccgag tccggccagg agccggcgtc ccgcgccag	420
ggccagagcc aaggccagag ccagggcccg ggcagcgggg acacgtaccg gcccaagcgg	480
cccaccacgc tcaacctctt tccgcaggtg ccgcggtctc aggacacact gaataataat	540
tctctgggca aaaagcacag ttggcaggat cgggtgtctc gatcatctc acccctgaag	600
acaggggagc agacaccacc gcatgaacac atctgcctga gcgatgagct gccccccag	660
agcggccccg cccccaccac agatcgaggc acctccaccg acagcccttg ccgccgcagc	720
acagccaccc agatggcacc tccgggtggt cccctgctg cccgcctgg gggtcggggc	780
cactcgcac c gagaccgaat ccactaccag gccgatgtgc gactagaggc cactgaggag	840
atctacctga ccccagtgca gaggccccca gacgctgcag agcccacctc cgccttctg	900
ccgcccactg agagccggat gtcagtcagc tccgatccag accctgccgc ctaccctcc	960
acggcagggc ggccgcaccc ctccatcagt gaagaggaag agggcttcga ctgcctgtcg	1020
tccccagagc gggctgagcc cccaggcggg ggggtggcgg ggagcctggg ggagccgccg	1080
ccacctccac gggcctctct gagctcggac accagcgcct tgcctatga ctctgtcaag	1140
tacacgctgg tggtagatga gcatgcacag ctggagctgg tgagcctgcg gccgtgcttc	1200
ggagactaca gtgacgagag tgactctgcc accgtctatg acaactgtgc ctccgtctcc	1260
tcgccctatg agtcggccat cggagaggaa tatgaggagg ccccgcggcc ccagccccct	1320
gcctgcctct ccgaggactc cagcctgat gaacccgacg tccatttctc caagaaattc	1380
ctgaacgtct tcatgagtgg ccgtccccgc tcctccagtg ctgagtcctt cgggctgttc	1440
tcctgcatca tcaacgggga ggagcaggag cagaccaccc gggccatatt caggtttggt	1500
cctcgacacg aagacgaact tgagctggaa gtggatgacc ctctgctagt ggagctccag	1560
gctgaagact actggtacga ggcctacaac atgcgcactg gtgcccgggg tgtctttcct	1620
gcctattacg ccatcgaggt caccaaggag cccgagcaca tggcagccct ggccaaaaac	1680
agtgactggg tggaccagtt ccgggtgaag ttcttgggct cagtccaggt tccctatcac	1740

Fig. 32

aagggaatg acgtcctctg tgctgctatg cagaagattg ccaccacccg cgggtcacc	1800
gtgcacttta acccgccctc cagctgtgtc ctggagatca gcgtgcgggg tgtgaagata	1860
ggcgtcaagg ccgatgactc ccaggaggcc aaggggaata aatgtagcca cttttccag	1920
ttaaaaaca tctctttctg cggatatcat ccaagaaca acaagtactt tgggttcac	1980
accaagcacc ccgccgacca ccggtttgcc tgccacgtct ttgtgtctga agactccacc	2040
aaagccctgg cagagtccgt ggggagagca ttccagcagt tctacaagca gtttgtggag	2100
tacacctgcc ccacagaaga tatctacctg gagtag	2136

Fig. 32 (forts.)

SEKVENSLISTE

<110> Xigen S.A.
 <120> Anvendelse av celle-permeable peptidinhibitorer av JNK signal
 transduksjonsveien for behandling av ulike sykdommer
 <130> CX01P022W01EPT2
 <160> 105
 <170> Patent In version 3.3
 <210> 1
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens
 <220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: Peptid L-IBl(s) (se Tabell 1)
 <400> 1
 Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro Arg
 1 5 10 15

Ser Gln Asp

<210> 2
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens
 <220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: Peptid D-IBl(s) (se Tabell 1)
 <220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (19)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer
 <400> 2
 Asp Gln Ser Arg Pro val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
 1 5 10 15

Lys Pro Arg

<210> 3
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens
 <220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: Peptid L-IB (generisk) (s) (se Tabell 1)
 <220>
 <221> misc feature
 <223> Beskrivelse av sekvens: Beskrivelse av sekvens: generell
 formel: NH2-Xnb-Xna-RPTTLXLXXXXXXQD-Xnb-COOH (se Tabell 1)

<221> VARIANT
 <222> (1) .. (1)
 <223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, hvori Xaa representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra hvilken som helst (naturlig) aminosyrerest;

<220>
 <221>
 <222> REPEAT
 <223> (1) .. (1)
 Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, hvori n er 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 eller mer for Xnb

<220>
 <221>
 <222> VARIANT
 (2) .. (2)
 <223> Xaa er Xna som definert i den generelle formelen, der Xaa representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra hvilken som helst (naturlig) aminosyrerest unntatt serin og threonin

<220>
 <221> REPEAT
 <222> (2) .. (2)
 <223> Xaa er Xna som definert i den generelle formelen, der n er 0 eller 1

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (8) .. (8)
 <223> Xaa representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra hvilken som helst (naturlig) aminosyrerest;

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (10) .. (16)
 <223> Xaa representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra hvilken som helst (naturlig) aminosyrerest;

<220>
 <221> REPEAT
 <222> (19) .. (19)
 <223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der n er 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 eller mer for Xnb

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (19) .. (19)
 <223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der Xaa representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra hvilken som helst (naturlig) aminosyrerest;

<400> 3

Xaa Xaa Arg Pro Thr Thr Leu Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15

Gln Asp Xaa

<210> 4
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: Peptid D-IB (generisk) (s) (se Tabell 1)

- <220>
 <221> misc feature
 <223> Beskrivelse av sekvens: generell formel:
 NH₂-Xnb-DQXXXXXXXXLXLTPR-Xna-Xnb-COOH,
- <220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (19)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer
- <220>
 <221> VARIANT
 <222> (1) .. (11)
 <223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der Xaa
 representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra hvilken
 som helst (naturlig) aminosyrerest;
- <220>
 <221> REPEAT
 <222> (1) .. (1)
 <223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der n er 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30
 eller mer for Xnb
- <220>
 <221> VARIANT
 <222> (4) .. (10)
 <223> Xaa representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra
 hvilken som helst (naturlig) aminosyrerest;
- <220>
 <221> VARIANT
 <222> (12) .. (12)
 <223> Xaa representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra
 hvilken som helst (naturlig) aminosyrerest;
- <220>
 <221> REPEAT
 <222> (18) .. (18)
 <223> Xaa er Xna som definert i den generelle formelen, der n er 0 eller 1
- <220>
 <221> VARIANT
 <222> (18) .. (18)
 <223> Xaa er Xna som definert i den generelle formelen, der Xaa representerer en aminosyrerest,
 fortrinnsvis valgt fra hvilken som helst(naturlig) aminosyrerest unntatt serin og threonin
- <220>
 <221> VARIANT
 <222> (18) .. (18)
 <223> Xaa er Xna som definert i den generelle formelen, der Xaa representerer en aminosyrerest,
 fortrinnsvis valgt fra hvilken som helst(naturlig) aminosyrerest unntatt serin og threonin
- <220>
 <221> REPEAT
 <222> (19) .. (19)
 <223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der n er 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30
 eller mer for Xnb
- <220>
 <221> VARIANT
 <222> (19) .. (19)
 <223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der Xaa
 representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra hvilken
 som helst (naturlig) aminosyrerest;

<400> 4

Xaa Asp Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Leu Thr Thr Pro
 1 5 10 15

Arg Xaa Xaa

<210> 5
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: Peptid L-TAT (se Tabell 1)

<400> 5

Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
 1 5 10

<210> 6
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: Peptid D-TAT (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (10)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 6

Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Gly
 1 5 10

<210> 7
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: Peptid L-generisk-TAT (s) (se Tabell 1)

<220>
 <221> misc feature
 <223> Generell formel: NH₂-Xnb-RKKRRQRRR-Xnb-COOH (se Tabell 1)

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1) .. (1)
 <223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der Xaa representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra hvilken som helst (naturlig) aminosyrerest;

<220>
 <221> REPEAT
 <222> (1) .. (1)

<223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der n er 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 eller mer for Xnb

<220>

<221> VARIANT

<222> (11) .. (11)

<223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der Xaa representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra hvilken som helst (naturlig) aminosyrerest;

<220>

<221> REPEAT

<222> (11) .. (11)

<223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der n er 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 eller mer for Xnb

<400> 7

Xaa Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Xaa
1 5 10

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Kunstig

<220>

<223> Beskrivelse av sekvens: Peptid D-generisk-TAT (s) (se Tabell 1)

<220>

<221> misc feature

<223> Generell formel: NH₂-Xnb-RRRQRRKKR-Xnb-COOH

<220>

<221> MUTAGEN

<222> (1) .. (10)

<223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<220>

<221> VARIANT

<222> (1) .. (1)

<223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der Xaa representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra hvilken som helst (naturlig) aminosyrerest;

<220>

<221> REPEAT

<222> (1) .. (1)

<223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der n er 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 eller mer for Xnb

<220>

<221> VARIANT

<222> (11) .. (11)

<223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der Xaa representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra hvilken som helst (naturlig) aminosyrerest;

<220>

<221> REPEAT

<222> (11) .. (11)

<223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der n er 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 eller mer for Xnb

<400> 8

Xaa Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Xaa
 1 5 10

<210> 9
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-TAT-IBI (s) (se Tabell 1)

<400> 9

Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Arg Pro Lys Arg
 1 5 10 15

Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro Arg Ser Gln Asp
 20 25 30

<210> 10
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens:Peptid L-TAT (generisk) (s) (se Tabell 1)

<220>
 <221> misc feature
 <223> Beskrivelse av sekvens: Generell formel:
 NH₂-Xnb-RKKRRQRRR-Xnb-Xna-RPTTLXLXXXXXXQD-Xnb-COOH

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1) .. (1)
 <223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der Xaa
 representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra hvilken
 som helst (naturlig) aminosyrerest;

<220>
 <221> REPEAT
 <222> (1) .. (1)
 <223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der n er 0-5,
 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 eller mer for Xnb

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (11) .. (11)
 <223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der Xaa
 representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra hvilken
 som helst (naturlig) aminosyrerest;

<220>
 <221> REPEAT
 <222> (11) .. (11)
 <223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der n er 0-5,
 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 eller mer for Xnb

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (12) .. (12)
 <223> Xaa er Xna som definert in den generelle formel, der Xaa
 representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra hvilken som
 helst

(naturlig) aminosyrerest unntatt serin og threonin

<220>
 <221> REPEAT
 <222> (12) .. (12)
 <223> Xaa er Xna som definert i den generelle formelen, der n er 0 eller 1

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (18) .. (18)
 <223> Xaa representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra hvilken som helst (naturlig) aminosyrerest;

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (20) .. (26)
 <223> Xaa representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra hvilken som helst (naturlig) aminosyrerest;

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (29) .. (29)
 <223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der Xaa representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra hvilken som helst (naturlig) aminosyrerest;

<220>
 <221> REPEAT
 <222> (29) .. (29)
 <223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der n er 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 eller mer for Xnb

<400> 10

Xaa Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Xaa Xaa Arg Pro Thr Thr
 1 5 10 15

Leu Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gln Asp Xaa
 20 25

<210> 11
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: Peptid D-TAT-IB1 (s) (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (31)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 11

Asp Gln Ser Arg Pro val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
 1 5 10 15

Lys Pro Arg Pro Pro Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Gly
 20 25 30

<210> 12
 <211> 29

- <212> PRT
<213> Kunstig sekvens
- <220>
<223> Beskrivelse av sekvens: Peptid: D-TAT (generisk) (s) (se Tabell 1)
- <220>
<221> misc feature
<223> Generell formel:
NH₂-Xnb-DQXXXXXXXXLXLTPR-Xna-Xnb-RRRQRRKKR-Xnb-COOH,
- <220>
<221> MUTAGEN
<222> (1) .. (19)
<223> alle aminosyrer er D-aminosyrer
- <220>
<221> VARIANT
<222> (1) .. (1)
<223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der Xaa representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra hvilken som helst (naturlig) aminosyrerest;
- <220>
<221> REPEAT
<222> (1) .. (1)
<223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formel, der n er 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 eller mer for Xnb
- <220>
<221> VARIANT
<222> (4) .. (10)
<223> Xaa representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra hvilken som helst (naturlig) aminosyrerest;
- <220>
<221> VARIANT
<222> (12) .. (12)
<223> Xaa representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra hvilken som helst (naturlig) aminosyrerest;
- <220>
<221> VARIANT
<222> (18) .. (18)
<223> Xaa er Xna som definert i den generelle formelen, der Xaa representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra hvilken som helst (naturlig) aminosyrerest unntatt serin og threonin
- <220>
<221> REPEAT
<222> (18) .. (18)
<223> Xaa er Xna som definert i den generelle formel, der n er 0 eller 1
- <220>
<221> VARIANT
<222> (19) .. (19)
<223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der Xaa representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra hvilken som helst (naturlig) aminosyrerest;
- <220>
<221> REPEAT
<222> (19) .. (19)
<223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der n er 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 eller mer for Xnb

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (29) .. (29)
 <223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der Xaa
 representerer en aminosyrerest, fortrinnsvis valgt fra hvilken som
 helst (naturlig) aminosyrerest;

<220>
 <221> REPEAT
 <222> (29) .. (29)
 <223> Xaa er Xnb som definert i den generelle formelen, der n er 0-5,
 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 eller mer for Xnb

<400> 12

Xaa Asp Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Leu Thr Thr Pro
 1 5 10 15

Arg Xaa Xaa Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Xaa
 20 25

<210> 13
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Kunstig
 sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: peptid IB1-long (se Tabell 1)

<400> 13

Pro Gly Thr Gly Cys Gly Asp Thr Tyr Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr
 1 5 10 15

Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro Arg Ser Gln Asp Thr
 20 25

<210> 14
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Kunstig
 sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: Peptid IB2-long (se Tabell 1)

<400> 14

Ile Pro Ser Pro Ser val Glu Glu Pro His Lys His Arg Pro Thr Thr
 1 5 10 15

Leu Arg Leu Thr Thr Leu Gly Ala Gln Asp Ser
 20 25

<210> 15
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Kunstig
 sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: Peptid avledet fra c-Jun (se Tabell 1)

<400> 15

Gly Ala Tyr Gly Tyr Ser Asn Pro Lys Ile Leu Lys Gln Ser Met Thr
 1 5 10 15

Leu Asn Leu Ala Asp Pro Val Gly Asn Leu Lys Pro His
 20 25

<210> 16
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Kunstig

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: Peptid avledet fra ATF2 (se Tabell 1)

<400> 16

Thr Asn Glu Asp His Leu Ala val His Lys His Lys His Glu Met Thr
 1 5 10 15

Leu Lys Phe Gly Pro Ala Arg Asn Asp Ser val Ile val
 20 25

<210> 17
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Kunstig
 sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: Peptid L-IB1 (se Tabell 1)

<400> 17

Asp Thr Tyr Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln
 1 5 10 15

val Pro Arg Ser Gln Asp Thr
 20

<210> 18
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: Peptid D-IB1 (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (23)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 18

Thr Asp Gln Ser Arg Pro val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro
 1 5 10 15

Arg Lys Pro Arg Tyr Thr Asp
 20

<210> 19
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: Peptid L-IB (generisk) (se Tabell 1)

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1) .. (1)
 <223> Xaa er valgt fra hvilken som helst aminosyrerest,

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (7) .. (7)
 <223> Xaa er valgt fra hvilken som helst aminosyrerest,

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (9) .. (15)
 <223> Xaa er valgt fra hvilken som helst aminosyrerest,

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (18) .. (18)
 <223> Xaa er valgt fra serin eller treonin,

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (19) .. (19)
 <223> Xaa er valgt fra hvilken som helst aminosyrerest,

<400> 19

Xaa Arg Pro Thr Thr Leu Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gln
 1 5 10 15

Asp Xaa Xaa

<210> 20
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: Peptid D-IB (generisk) (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (19)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1) .. (1)
 <223> Xaa er valgt fra hvilken som helst aminosyrerest

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (2) .. (2)
 <223> Xaa er valgt fra serin or treonin

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (5) .. (11)
 <223> Xaa er valgt fra hvilken som helst aminosyrerest

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (13) .. (13)
 <223> Xaa er valgt fra hvilken som helst aminosyrerest

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (19) .. (19)
 <223> Xaa er valgt fra hvilken som helst aminosyrerest

<400> 20

Xaa Xaa Asp Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Leu Thr Thr
 1 5 10 15

Pro Arg Xaa

<210> 21
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: Peptid L-generisk-TAT (se Tabell 1)

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1) .. (17)
 <223> Xaa er valgt fra hvilken som helst aminosyrerest

<400> 21

Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15

Xaa

<210> 22
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: Peptid D-generisk-TAT (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (17)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1) .. (17)
 <223> Xaa er valgt fra hvilken som helst aminosyrerest

<400> 22

Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa

<210> 23

<211> 35

<212> PRT

<213> Kunstig sekvens

<220>

<223> Beskrivelse av sekvens: Peptid L-TAT-IBI (se Tabell 1)

<400> 23

Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Asp Thr Tyr Arg
1 5 10 15

Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro Arg Ser
20 25 30

Gln Asp Thr
35

<210> 24

<211> 42

<212> PRT

<213> Kunstig
sekvens

<220>

<223> Beskrivelse av sekvens: Peptid L-TAT IB (generisk) (se Tabell 1)

<220>

<221> VARIANT

<222> (1) .. (40)

<223> Xaa er valgt fra hvilken som helst aminosyrerest

<220>

<221> VARIANT

<222> (41) .. (41)

<223> Xaa er valgt fra serin eller treonin

<220>

<221> VARIANT

<222> (42) .. (42)

<223> Xaa er valgt fra hvilken som helst aminosyrerest

<400> 24

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Pro Thr Thr Leu Xaa Leu Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gln Asp Xaa Xaa

35

40

<210> 25
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: Peptid D-TAT-IB1 (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (35)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 25

Thr Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro
 1 5 10 15

Arg Lys Pro Arg Tyr Thr Asp Pro Pro Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys
 20 25 30

Lys Arg Gly
 35

<210> 26
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: Peptid D-TAT IB (generisk) (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (42)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (1) .. (1)
 <223> Xaa er valgt fra hvilken som helst aminosyrerest

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (2) .. (2)
 <223> Xaa er valgt fra serin eller treonin

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (3) .. (42)
 <223> Xaa er valgt fra hvilken som helst aminosyrerest

<400> 26

Xaa Xaa Asp Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Leu Thr Thr
 1 5 10 15

Pro Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Arg Arg Gln Arg Arg
 20 25 30

Lys Lys Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 35 40

<210> 27
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Kunstig
 sekvens
 <220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: Kimær peptidsekvens L-TAT-IB1(s1) (see
 Table 1)

<400> 27

Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Arg Pro Lys Arg Pro
 1 5 10 15

Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro Arg Ser Gln Asp
 20 25 30

<210> 28
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens
 <220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: kimær peptidsekvens L-TAT-IB1(s2)
 (se Tabell 1)

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (11) .. (11)
 <223> Xaa er valgt fra glycin eller prolin

<220>
 <221> REPEAT
 <222> (11) .. (11)
 <223> Xaa er Xnc som definert i den generelle formelen, der n er 0-5,
 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 eller mer for Xnc

<400> 28

Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Xaa Arg Pro Lys Arg Pro
 1 5 10 15

Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro Arg Ser Gln Asp
 20 25 30

<210> 29
 <211> 29
 <212> PRT
 <213> Kunstig
 sekvens
 <220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: kimær peptidsekvens L-TAT-IB1(s3) (se
 Tabell 1)

<220>
 <221> VARIANT

<222> (10) .. (10)
 <223> Xaa er valgt fra glycin eller prolin

<220>
 <221> REPEAT
 <222> (10) .. (10)
 <223> Xaa er Xnc som definert i den generelle formelen, der n er 0-5,
 5-10, 10-15, 15-20, 20-30 eller mer for Xnc

<400> 29

Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Xaa Arg Pro Lys Arg Pro Thr
 1 5 10 15

Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro Arg Ser Gln Asp
 20 25

<210> 30
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: kimær peptidsekvens D-TAT-IB1(s1) (se
 Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (30)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 30

Asp Gln ser Arg Pro val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
 1 5 10 15

Lys Pro Arg Pro Pro Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg
 20 25 30

<210> 31
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: kimær peptidsekvens D-TAT-IB1(s2) (see Tab
 le 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (30)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<220>
 <221> VARIANT
 <222> (20) .. (20)
 <223> Xaa er valgt fra glycin eller prolin

<220>
 <221> REPEAT
 <222> (20) .. (20)
 <223> Xaa er Xnc som definert i den generelle formelen, der n er 0-5,

5-10, 10-15, 15-20, 20-30 eller mer for Xnc

<400> 31

Asp Gln Ser Arg Pro val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
1 5 10 15

Lys Pro Arg Xaa Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Gly
20 25 30

<210> 32

<211> 29

<212> PRT

<213> Kunstig sekvens

<220>

<223> Beskrivelse av sekvens: kimær peptidsekvens D-TAT-IB1(s3)
(se Tabell 1)

<220>

<221> MUTAGEN

<222> (1) .. (29)

<223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<220>

<221> VARIANT

<222> (20) .. (20)

<223> Xaa er valgt fra glycin eller prolin

<220>

<221> REPEAT

<222> (20) .. (20)

<223> Xaa er Xnc som definert i den generelle formelen, der n er 0-5,
5-10, 10-15, 15-20, 20-30 eller mer for Xnc

<400> 32

Asp Gln Ser Arg Pro val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
1 5 10 15

Lys Pro Arg Xaa Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg
20 25

<210> 33

<211> 13

<212> PRT

<213> Kunstig sekvens

<220>

<223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s1) (se Tabell 1)

<400> 33

Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro Arg Ser Gln Asp
1 5 10

<210> 34

<211> 13

<212> PRT

<213> Kunstig
sekvens

<220>

<223> Beskrivelse av sekvens: L-IBI(s2) (se Tabell 1)

<400> 34

Thr .Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro Arg Ser Gln
1 5 10

<210> 35
<211> 13
<212> PRT
<213> Kunstig sekvens

<220>
<223> Beskrivelse av sekvens: L-IBI(s3) (se Tabell 1)

<400> 35

Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro Arg Ser
1 5 10

<210> 36
<211> 13
<212> PRT
<213> Kunstig sekvens

<220>
<223> Beskrivelse av sekvens: L-IBI(s4) (se Tabell 1)

<400> 36

Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro Arg
1 5 10

<210> 37
<211> 13
<212> PRT
<213> Kunstig sekvens

<220>
<223> Beskrivelse av sekvens: L-IBI(s5) (se Tabell 1)

<400> 37

Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro
1 5 10

<210> 38
<211> 13
<212> PRT
<213> Kunstig sekvens

<220>
<223> Beskrivelse av sekvens: L-IBI(s6) (se Tabell 1)

<400> 38

Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val
1 5 10

<210> 39
<211> 13
<212> PRT
<213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s7) (se Tabell 1)
 <400> 39

Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln
 1 5 W

<210> 40
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Arti fi ci al

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s8) (se Tabell 1)
 <400> 40

Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro Arg Ser Gln Asp
 1 5 10

<210> 41
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s9) (se Tabell 1)
 <400> 41

Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro Arg Ser Gln
 1 5 10

<210> 42
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s10) (se Tabell 1)
 <400> 42

Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro Arg ser
 1 5 10

<210> 43
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s11) (se Tabell 1)
 <400> 43

Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro Arg
 1 5 10

<210> 44
 <211> 12

<212> PRT
 <213> Kunstig sekvens
 <220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s12) (se Tabell 1)

<400> 44

Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro
 1 5 10

<210> 45
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Kunsrig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s13) (se Tabell 1)

<400> 45

Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val
 1 5 10

<210> 46
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s14) (se Tabell 1)

<400> 46

Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln
 1 5 10

<210> 47
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Kunstig
 sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s15) (se Tabell 1)

<400> 47

Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro
 1 5 10

<210> 48
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Kunstig
 sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s16) (se Tabell 1)

<400> 48

Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp
 1 5 10

<210> 49
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Kunstig

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s17) (se Tabell 1)
 <400> 49

Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro Arg ser Gln
 1 5 10

<210> 50
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s18) (se Tabell 1)
 <400> 50

Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro Arg Ser
 1 5 10

<210> 51
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s19) (se Tabell 1)
 <400> 51

Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro Arg
 1 5 10

<210> 52
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s20) (se Tabell 1)
 <400> 52

Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro
 1 5 10

<210> 53
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s21) (se Tabell 1)
 <400> 53

Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val
 1 5 10

<210> 54
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s22) (se Tabel 1)
 <400> 54

Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln
 1 5 10

<210> 55
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s23) (se Tabell 1)
 <400> 55

Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro
 1 5 10

<210> 56
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s24) (se Tabell 1)
 <400> 56

Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe
 1 5 10

<210> 57
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s25) (se Tabell 1)
 <400> 57

Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp
 1 5 10

<210> 58
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s26) (se Tabell 1)
 <400> 58

Asn Leu Phe Pro Gln val Pro Arg Ser Gln
 1 5 10

<210> 59
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s27) (se Tabell 1)

<400> 59

Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro Arg Ser
 1 5 10

<210> 60
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s28) (se Tabell 1)

<400> 60

Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro Arg
 1 5 10

<210> 61
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s29) (see Table 1)

<400> 61

Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln val Pro
 1 5 10

<210> 62
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s30) (se Tabell 1)

<400> 62

Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val
 1 5 10

<210> 63
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s31) (se Tabell 1)

<400> 63

Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln
1 5 10

<210> 64
<211> 10
<212> PRT
<213> Kunstig sekvens

<220>
<223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s32) (se Tabell 1)

<400> 64

Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro
1 5 10

<210> 65
<211> 10
<212> PRT
<213> Kunstig sekvens

<220>
<223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s33) (se Tabell 1)

<400> 65

Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe
1 5 10

<210> 66
<211> 10
<212> PRT
<213> Kunstig
sekvens

<220>
<223> Beskrivelse av sekvens: L-IB1(s34) (se Tabell 1)

<400> 66

Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu
1 5 10

<210> 67
<211> 13
<212> PRT
<213> Kunstig sekvens

<220>
<223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s1) (se Tabell 1)

<220>
<221> MUTAGEN
<222> (1) .. (13)
<223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 67

Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro Arg
1 5 10

<210> 68
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s2) (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (13)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 68

Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro
 1 5 10

<210> 69
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Kunstig
 sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s3) (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (13)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 69

Pro val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys
 1 5 10

<210> 70
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Kunstig
 sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s4) (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (13)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 70

Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
 1 5 10

<210> 71
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Kunstig

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s5) (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (13)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer
 <400> 71
 Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro
 1 5 10
 <210> 72
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Kunstig
 sekvens
 <220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s6) (se Tabell 1)
 <220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (13)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer
 <400> 72
 Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr
 1 5 10
 <210> 73
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens
 <220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s7) (se Tabell 1)
 <220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (13)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer
 <400> 73
 Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr
 1 5 10
 <210> 74
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Kunstig
 sekvens
 <220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s8) (se Tabell 1)
 <220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (12)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer
 <400> 74

Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro Arg
 1 5 10

<210> 75
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Kunstig
 sekvens

<220>
 <223>

Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s9) (se Tabell 1)

<220>
 <221>
 <222>
 <223>

MUTAGEN
 (1) .. (12)
 alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 75

Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro
 1 5 10

<210> 76
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>

<223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s10) (se Tabell 1)

<220>

<221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (12)

<223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 76

val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys
 1 5 10

<210> 77
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>

<223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s11) (se Tabell 1)

<220>

<221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (12)

<223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 77

Pro val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
 1 5 10

<210> 78
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s12) (se Tabell 1)
 <220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (12)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer
 <400> 78

Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro
 1 5 10

<210> 79
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s13) (se Tabell 1)
 <220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (12)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 79

Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr
 1 5 10

<210> 80
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s14) (se Tabell 1)
 <220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (12)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 80

Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr
 1 5 10

<210> 81
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s15) (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (12)

<223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 81

Asp Gln Ser Arg Pro val Gln Pro Phe Leu Asn Leu
1 5 10

<210> 82
<211> 11
<212> PRT
<213> Kunstig sekvens

<220>
<223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s16) (se Tabell 1)

<220>
<221> MUTAGEN
<222> (1) .. (11)
<223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 82

Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro Arg
1 5 10

<210> 83
<211> 11
<212> PRT
<213> Kunstig
sekvens

<220>
<223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s17) (se Tabell 1)

<220>
<221> MUTAGEN
<222> (1) .. (11)
<223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 83

Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro
1 5 10

<210> 84
<211> 11
<212> PRT
<213> Kunstig sekvens

<220>
<223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s18) (se Tabell 1)

<220>
<221> MUTAGEN
<222> (1) .. (11)
<223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 84

Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys
1 5 10

<210> 85
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s19) (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (11)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 85

Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
 1 5 10

<210> 86
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s20) (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (11)
 <223> alle aminosyrer er o-aminosyrer

<400> 86

Pro val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro
 1 5 10

<210> 87
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s21) (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (11)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 87

Arg Pro val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr
 1 5 10

<210> 88
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Kunstig
 sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s22) (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (11)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 88

Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr
 1 5 10

<210> 89
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s23) (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (11)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 89

Gln ser Arg Pro val Gln Pro Phe Leu Asn Leu
 1 5 10

<210> 90
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s24) (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (11)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 90

Asp Gln Ser Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn
 1 5 10

<210> 91
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s25) (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (10)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 91

Asp Gln ser Arg Pro val Gln Pro Phe Leu
 1 5 10

<210> 92
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s26) (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (10)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 92

Gln Ser Arg Pro val Gln Pro Phe Leu Asn
 1 5 10

<210> 93
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s27) (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (10)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 93

Ser Arg Pro val Gln Pro Phe Leu Asn Leu
 1 5 10

<210> 94
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s28) (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (10)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 94

Arg Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr
 1 5 10

<210> 95
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s29) (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (10)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 95

Pro Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr
 1 5 10

<210> 96
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s30) (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (10)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 96

Val Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro
 1 5 10

<210> 97
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s31) (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (10)
 <223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 97

Gln Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg
 1 5 10

<210> 98
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Kunstig sekvens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s32) (se Tabell 1)

<220>
 <221> MUTAGEN
 <222> (1) .. (10)

<223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 98

Pro Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys
1 5 10

<210> 99

<211> 10

<212> PRT

<213> Kunstig sekvens

<220>

<223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s33) (se Tabell 1)

<220>

<221> MUTAGEN

<222> (1) .. (10)

<223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 99

Phe Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro
1 5 10

<210> 100

<211> 10

<212> PRT

<213> Kunstig sekvens

<220>

<223> Beskrivelse av sekvens: D-IB1(s34) (se Tabell 1)

<220>

<221> MUTAGEN

<222> (1) .. (10)

<223> alle aminosyrer er D-aminosyrer

<400> 100

Leu Asn Leu Thr Thr Pro Arg Lys Pro Arg
1 5 10

<210> 101

<211> 21

<212> DNA

<213> Kunstig sekvens

<220>

<223> Beskrivelse av sekvens: ap-1 dobbeltmerket probe (seep. 66)

<400> 101

cgcttgatga gtcagccgga a

21

<210> 102

<211> 2953

<212> DNA

<213> Kunstig sekvens

<220>

<223> Beskrivelse av sekvens: rotte IB1 cDNA-sekvens og dens forutsagte

aminosyresekvens (se Figur 1)

<220>
 <221> CDS
 <222> (108)..(2252)

<400> 102
 ccgccccagc tcagtcgaa ccccgcggcg gcggcggcct cctccacacg cctccacctc 60
 cgccgccgcc gccgccgcc cgccctccc cgccgctctc cgcccgg atg gcc agg 116
 Met Ala Arg
 1

ctg agc ccg gga atg gcg gag cga gag agc ggc ctg agc ggg ggt gcc 164
 Leu Ser Pro Gly Met Ala Glu Arg Glu Ser Gly Leu Ser Gly Gly Ala
 5 10 15

gcg tcc cca ccg gcc gct tcc cca ttc ctg gga ctg cac atc gcg tcg 212
 Ala Ser Pro Pro Ala Ala Ser Pro Phe Leu Gly Leu His Ile Ala Ser
 20 25 30 35

cct ccc aat ttc agg ctc acc cat gat atc agc ctg gag gag ttt gag 260
 Pro Pro Asn Phe Arg Leu Thr His Asp Ile Ser Leu Glu Glu Phe Glu
 40 45 50

gat gaa gac ctt tcg gag atc act gat gag tgt ggc atc agc ctg cag 308
 Asp Glu Asp Leu Ser Glu Ile Thr Asp Glu Cys Gly Ile Ser Leu Gln
 55 60 65

tgc aaa gac acc ttg tct ctc cgg ccc ccg cgc gcc ggg cta ctg tct 356
 Cys Lys Asp Thr Leu Ser Leu Arg Pro Pro Arg Ala Gly Leu Leu Ser
 70 75 80

gcg ggt agc agc ggt agc gcg ggg agc cgg ctg cag gcg gag atg ctg 404
 Ala Gly Ser Ser Gly Ser Ala Gly Ser Arg Leu Gln Ala Glu Met Leu
 85 90 95

cag atg gac ctg atc gac gcg gca agt gac act ccg ggc gcc gag gac 452
 Gln Met Asp Leu Ile Asp Ala Ala Ser Asp Thr Pro Gly Ala Glu Asp
 100 105 110 115

gac gaa gag gac gac gag ctc gct gcc caa cgg cca gga gtg ggg 500
 Asp Glu Glu Asp Asp Glu Leu Ala Gln Arg Pro Gly Val Gly
 120 125 130

cct tcc aaa gcc gag tct ggc cag gag ccg gcg tct cgc agc cag ggt 548
 Pro Ser Lys Ala Glu Ser Gly Gln Glu Pro Ala Ser Arg Ser Gln Gly
 135 140 145

cag ggc cag ggc ccc ggc aca ggc tgc gga gac acc tac cgg ccc aag 596
 Gln Gly Gln Gly Pro Gly Thr Gly Cys Gly Asp Thr Tyr Arg Pro Lys
 150 155 160

agg cct acc acg ctc aac ctt ttc ccg cag gtg ccg cgg tct cag gac 644
 Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp
 165 170 175

acg ctg aat aat aac tct tta ggc aaa aag cac agt tgg cag gac cgt 692
 Thr Leu Asn Asn Asn Ser Leu Gly Lys Lys His Ser Trp Gln Asp Arg
 180 185 190 195

gtg tct cga tca tcc tcc cct ctg aag aca ggg gag cag acg cct cca 740
 Val Ser Arg Ser Ser Ser Pro Leu Lys Thr Gly Glu Gln Thr Pro Pro
 200 205 210

cat gaa cat atc tgc ctg agt gat gag ctg ccg ccc cag ggc agt cct 788
 His Glu His Ile Cys Leu Ser Asp Glu Leu Pro Pro Gln Gly Ser Pro
 215 220 225

ggt	ccc	acc	cag	gat	cgt	ggc	act	tcc	acc	gac	agc	cct	tgt	cgc	cgt	836
Val	Pro	Thr	Gln	Asp	Arg	Gly	Thr	Ser	Thr	Asp	Ser	Pro	Cys	Arg	Arg	
		230					235					240				
act	gca	gcc	acc	cag	atg	gca	cct	cca	agt	ggt	ccc	cct	gcc	act	gca	884
Thr	Ala	Ala	Thr	Gln	Met	Ala	Pro	Pro	Ser	Gly	Pro	Pro	Ala	Thr	Ala	
	245					250					255					
cct	ggt	ggc	cgg	ggc	cac	tcc	cat	cga	gat	cgg	tcc	ata	tca	gca	gat	932
Pro	Gly	Gly	Arg	Gly	His	Ser	His	Arg	Asp	Arg	Ser	Ile	Ser	Ala	Asp	
260					265					270					275	
gtg	cgg	ctc	gag	ggc	act	gag	gag	atc	tac	ctg	acc	cca	gtg	cag	agg	980
Val	Arg	Leu	Glu	Ala	Thr	Glu	Glu	Ile	Tyr	Leu	Thr	Pro	Val	Gln	Arg	
				280					285					290		
ccc	cca	gac	cct	gca	gaa	ccc	acc	tcc	acc	ttc	ttg	cca	ccc	act	gag	1028
Pro	Pro	Asp	Pro	Ala	Glu	Pro	Thr	Ser	Thr	Phe	Leu	Pro	Pro	Thr	Glu	
			295					300					305			
agc	cgg	atg	tct	gtc	agc	tcg	gat	cct	gac	cct	gcc	gct	tac	tct	gta	1076
Ser	Arg	Met	Ser	Val	Ser	Ser	Asp	Pro	Asp	Pro	Ala	Ala	Tyr	Ser	Val	
		310					315					320				
act	gca	ggg	cga	ccg	cac	cct	tcc	atc	agt	gaa	gag	gat	gag	ggc	ttc	1124
Thr	Ala	Gly	Arg	Pro	His	Pro	Ser	Ile	Ser	Glu	Glu	Asp	Glu	Gly	Phe	
	325					330					335					
gac	tgt	ctg	tca	tcc	cca	gag	caa	gct	gag	cca	cca	ggt	gga	ggg	tgg	1172
Asp	Cys	Leu	Ser	Ser	Pro	Glu	Gln	Ala	Glu	Pro	Pro	Gly	Gly	Gly	Trp	
340					345					350					355	
cgg	gga	agc	ctc	ggg	gag	cca	cca	ccg	cct	cca	cgg	gcc	tca	ctg	agc	1220
Arg	Gly	Ser	Leu	Gly	Glu	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	Arg	Ala	Ser	Leu	Ser	
				360				365						370		
tcg	gac	acc	agc	gca	ctg	tcc	tac	gac	tct	gtc	aag	tac	aca	ctg	gtg	1268
Ser	Asp	Thr	Ser	Ala	Leu	Ser	Tyr	Asp	Ser	Val	Lys	Tyr	Thr	Leu	Val	
			375					380					385			
gtg	gat	gag	cat	gcc	cag	ctt	gag	ttg	gtg	agc	ctg	cgg	cca	tgt	ttt	1316
Val	Asp	Glu	His	Ala	Gln	Leu	Glu	Leu	Val	Ser	Leu	Arg	Pro	Cys	Phe	
		390					395					400				
gga	gat	tac	agt	gac	gaa	agc	gac	tct	gcc	act	gtc	tat	gac	aac	tgt	1364
Gly	Asp	Tyr	Ser	Asp	Glu	Ser	Asp	Ser	Ala	Thr	Val	Tyr	Asp	Asn	Cys	
	405					410					415					
gcc	tct	gcc	tcc	tcg	ccc	tac	gag	tca	gcc	att	ggt	gag	gaa	tat	gag	1412
Ala	Ser	Ala	Ser	Ser	Pro	Tyr	Glu	Ser	Ala	Ile	Gly	Glu	Glu	Tyr	Glu	
420					425					430					435	
gag	gcc	cct	caa	ccc	cgg	cct	ccc	acc	tgc	ctg	tca	gag	gac	tcc	aca	1460
Glu	Ala	Pro	Gln	Pro	Arg	Pro	Pro	Thr	Cys	Leu	Ser	Glu	Asp	Ser	Thr	
				440					445					450		
ccg	gat	gag	cct	gac	gtc	cac	ttc	tct	aag	aag	ttt	ctg	aat	gtc	ttc	1508
Pro	Asp	Glu	Pro	Asp	Val	His	Phe	Ser	Lys	Lys	Phe	Leu	Asn	Val	Phe	
			455					460					465			
atg	agt	ggc	cgc	tct	cgt	tcc	tcc	agt	gcc	gag	tcc	ttt	ggg	ctg	ttc	1556
Met	Ser	Gly	Arg	Ser	Arg	Ser	Ser	Ser	Ala	Glu	Ser	Phe	Gly	Leu	Phe	
		470					475					480				
tcc	tgt	gtc	atc	aat	ggg	gag	gag	cat	gag	caa	acc	cat	cgg	gct	ata	1604
Ser	Cys	Val	Ile	Asn	Gly	Glu	Glu	His	Glu	Gln	Thr	His	Arg	Ala	Ile	
	485					490					495					

ttc agg ttt gtg cct cgg cat gaa gat gaa ctt gag ctg gaa gtg gac Phe Arg Phe Val Pro Arg His Glu Asp Glu Leu Glu Leu Glu Val Asp 500 505 510 515	1652
gac cct ctg ctg gtg gag ctg cag gca gaa gac tat tgg tat gag gcc Asp Pro Leu Leu Val Glu Leu Gln Ala Glu Asp Tyr Trp Tyr Glu Ala 520 525 530	1700
tat aac atg cgc act gga gcc cgt ggt gtc ttt cct gcc tac tat gcc Tyr Asn Met Arg Thr Gly Ala Arg Gly Val Phe Pro Ala Tyr Tyr Ala 535 540 545	1748
att gag gtc acc aag gag cct gag cac atg gca gcc ctt gcc aaa aac Ile Glu Val Thr Lys Glu Pro Glu His Met Ala Ala Leu Ala Lys Asn 550 555 560	1796
agc gac tgg att gac cag ttc cgg gtg aag ttc ctg ggc tct gtc cag Ser Asp Trp Ile Asp Gln Phe Arg Val Lys Phe Leu Gly Ser Val Gln 565 570 575	1844
gtt cct tat cac aag ggc aat gat gtc ctc tgt gct gct atg caa aag Val Pro Tyr His Lys Gly Asn Asp Val Leu Cys Ala Ala Met Gln Lys 580 585 590 595	1892
atc gcc acc acc cgc cgg ctc acc gtg cac ttt aac ccg ccc tcc agc Ile Ala Thr Thr Arg Arg Leu Thr Val His Phe Asn Pro Pro Ser Ser 600 605 610	1940
tgt gtc ctt gaa atc agc gtt agg ggt gtc aag ata ggt gtc aaa gct Cys Val Leu Glu Ile Ser Val Arg Gly Val Lys Ile Gly Val Lys Ala 615 620 625	1988
gat gaa gct cag gag gcc aag gga aat aaa tgt agc cac ttt ttc cag Asp Glu Ala Gln Glu Ala Lys Gly Asn Lys Cys Ser His Phe Phe Gln 630 635 640	2036
cta aaa aac atc tct ttc tgt ggg tac cat cca aag aac aac aag tac Leu Lys Asn Ile Ser Phe Cys Gly Tyr His Pro Lys Asn Asn Lys Tyr 645 650 655	2084
ttt ggg ttt atc act aag cac cct gct gac cac cgg ttt gcc tgc cat Phe Gly Phe Ile Thr Lys His Pro Ala Asp His Arg Phe Ala Cys His 660 665 670 675	2132
gtc ttt gtg tct gaa gat tcc acc aaa gcc ctg gca gag tct gtg ggg Val Phe Val Ser Glu Asp Ser Thr Lys Ala Leu Ala Glu Ser Val Gly 680 685 690	2180
cgt gca ttt cag cag ttc tac aag caa ttt gtg gaa tat acc tgt cct Arg Ala Phe Gln Gln Phe Tyr Lys Gln Phe Val Glu Tyr Thr Cys Pro 695 700 705	2228
aca gaa gat atc tac ttg gag tag cagcaacccc cctctctgca gccctcagc Thr Glu Asp Ile Tyr Leu Glu 710	2282
cccaggccag tactaggaca gctgactgct gacaggatgt tgtactgcca cgagagaatg	2342
ggggagtgag ggctgttggg gtcggggggc aggggtttgg ggagaggcag atgcagtta	2402
ttgtaataata tggggttaga ttaatctatg gaggacagta caggctctct cggggctggg	2462
gaagggcagg gctgggggtgg gggtcaggca tctggccaca aaggggtccc ctagggacag	2522
agggcgtgca ccatacctggg cttgtttcat actagaggcc ctggctttct ggctcttggg	2582
tcctgccttg acaaagccca gccacctgga agtgtcacct tccttgtcc acctcaccca	2642

gtgccctgag ctcatgctga gcccaagcac ctccgaagga ctttccagta aggaaatggc 2702
aacatgtgac agtgagaccc tgttctcatc tgtggggctc cggcagctcc gacccccagc 2762
ctggccagca cgctgaccct ggcaagcttg tgtgttcaaa gaaggagagg gccacagcaa 2822
gccctgcttg ccaggaagg ttcctctca gctggcccca gcccaactggt cactgtcttg 2882
tcacctggct actactatta aagtgccatt tcttgtctga aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2942
aaaaactcga g 2953

<210> 103

<211> 714

<212> Kunstig sekvens

<213>

<220> Beskrivelse av sekvens: Protein kodet for av ekson-intron-grensen i rIB1-gen-

<223> spleisedonoren

<400> 103

Met Ala Arg Leu Ser Pro Gly Met Ala Glu Arg Glu Ser Gly Leu Ser
1 5 10 15

Gly Gly Ala Ala Ser Pro Pro Ala Ala Ser Pro Phe Leu Gly Leu His
20 25 30

Ile Ala Ser Pro Pro Asn Phe Arg Leu Thr His Asp Ile Ser Leu Glu
35 40 45

Glu Phe Glu Asp Glu Asp Leu Ser Glu Ile Thr Asp Glu Cys Gly Ile
50 55 60

Ser Leu Gln Cys Lys Asp Thr Leu Ser Leu Arg Pro Pro Arg Ala Gly
65 70 75 80

Leu Leu Ser Ala Gly Ser Ser Gly Ser Ala Gly Ser Arg Leu Gln Ala
85 90 95

Glu Met Leu Gln Met Asp Leu Ile Asp Ala Ala Ser Asp Thr Pro Gly
100 105 110

Ala Glu Asp Asp Glu Glu Asp Asp Asp Glu Leu Ala Ala Gln Arg Pro
115 120 125

Gly Val Gly Pro Ser Lys Ala Glu Ser Gly Gln Glu Pro Ala Ser Arg
130 135 140

Ser Gln Gly Gln Gly Gln Gly Pro Gly Thr Gly Cys Gly Asp Thr Tyr
145 150 155 160

Arg Pro Lys Arg Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg
165 170 175

Ser Gln Asp Thr Leu Asn Asn Asn Ser Leu Gly Lys Lys His Ser Trp
 180 185 190

Gln Asp Arg Val Ser Arg Ser Ser Ser Pro Leu Lys Thr Gly Glu Gln
 195 200 205

Thr Pro Pro His Glu His Ile Cys Leu Ser Asp Glu Leu Pro Pro Gln
 210 215 220

Gly Ser Pro Val Pro Thr Gln Asp Arg Gly Thr Ser Thr Asp Ser Pro
 225 230 235 240

Cys Arg Arg Thr Ala Ala Thr Gln Met Ala Pro Pro Ser Gly Pro Pro
 245 250 255

Ala Thr Ala Pro Gly Gly Arg Gly His Ser His Arg Asp Arg Ser Ile
 260 265 270

Ser Ala Asp Val Arg Leu Glu Ala Thr Glu Glu Ile Tyr Leu Thr Pro
 275 280 285

Val Gln Arg Pro Pro Asp Pro Ala Glu Pro Thr Ser Thr Phe Leu Pro
 290 295 300

Pro Thr Glu Ser Arg Met Ser Val Ser Ser Asp Pro Asp Pro Ala Ala
 305 310 315 320

Tyr Ser Val Thr Ala Gly Arg Pro His Pro Ser Ile Ser Glu Glu Asp
 325 330 335

Glu Gly Phe Asp Cys Leu Ser Ser Pro Glu Gln Ala Glu Pro Pro Gly
 340 345 350

Gly Gly Trp Arg Gly Ser Leu Gly Glu Pro Pro Pro Pro Pro Arg Ala
 355 360 365

Ser Leu Ser Ser Asp Thr Ser Ala Leu Ser Tyr Asp Ser Val Lys Tyr
 370 375 380

Thr Leu Val Val Asp Glu His Ala Gln Leu Glu Leu Val Ser Leu Arg
 385 390 395 400

Pro Cys Phe Gly Asp Tyr Ser Asp Glu Ser Asp Ser Ala Thr Val Tyr
 405 410 415

Asp Asn Cys Ala Ser Ala Ser Ser Pro Tyr Glu Ser Ala Ile Gly Glu
 420 425 430

Glu Tyr Glu Glu Ala Pro Gln Pro Arg Pro Pro Thr Cys Leu Ser Glu
 435 440 445

Asp Ser Thr Pro Asp Glu Pro Asp Val His Phe Ser Lys Lys Phe Leu
 450 455 460

Asn Val Phe Met Ser Gly Arg Ser Arg Ser Ser Ala Glu Ser Phe
 465 470 475 480

Gly Leu Phe Ser Cys Val Ile Asn Gly Glu Glu His Glu Gln Thr His
 485 490 495

Arg Ala Ile Phe Arg Phe Val Pro Arg His Glu Asp Glu Leu Glu Leu
 500 505 510

Glu Val Asp Asp Pro Leu Leu Val Glu Leu Gln Ala Glu Asp Tyr Trp
 515 520 525

Tyr Glu Ala Tyr Asn Met Arg Thr Gly Ala Arg Gly Val Phe Pro Ala
 530 535 540

Tyr Tyr Ala Ile Glu Val Thr Lys Glu Pro Glu His Met Ala Ala Leu
 545 550 555 560 565

Ala Lys Asn Ser Asp Trp Ile Asp Gln Phe Arg Val Lys Phe Leu Gly
 565 570 575

Ser Val Gln Val Pro Tyr His Lys Gly Asn Asp Val Leu Cys Ala Ala
 580 585 590

Met Gln Lys Ile Ala Thr Thr Arg Arg Leu Thr Val His Phe Asn Pro
 595 600 605

Pro Ser Ser Cys Val Leu Glu Ile Ser Val Arg Gly Val Lys Ile Gly
 610 615 620

Val Lys Ala Asp Glu Ala Gln Glu Ala Lys Gly Asn Lys Cys Ser His
 625 630 635 640

Phe Phe Gln Leu Lys Asn Ile Ser Phe Cys Gly Tyr His Pro Lys Asn
 645 650 655

Asn Lys Tyr Phe Gly Phe Ile Thr Lys His Pro Ala Asp His Arg Phe
 660 665 670

Ala Cys His Val Phe Val Ser Glu Asp Ser Thr Lys Ala Leu Ala Glu
 675 680 685

Ser Val Gly Arg Ala Phe Gln Gln Phe Tyr Lys Gln Phe Val Glu Tyr
 690 695 700

Thr Cys Pro Thr Glu Asp Ile Tyr Leu Glu
 705 710

<210> 104
 <211> 711
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: human IB1 proteinsekvens

<400> 104

Met Ala Glu Arg Glu Ser Gly Gly Leu Gly Gly Gly Ala Ala Ser Pro
 1 5 10 15

Pro Ala Ala Ser Pro Phe Leu Gly Leu His Ile Ala Ser Pro Pro Asn
 20 25 30

Phe Arg Leu Thr His Asp Ile Ser Leu Glu Glu Phe Glu Asp Glu Asp
 35 40 45

Leu Ser Glu Ile Thr Asp Glu Cys Gly Ile Ser Leu Gln Cys Lys Asp
 50 55 60

Thr Leu Ser Leu Arg Pro Pro Arg Ala Gly Leu Leu Ser Ala Gly Gly
 65 70 75 80

Gly Gly Ala Gly Ser Arg Leu Gln Ala Glu Met Leu Gln Met Asp Leu
 85 90 95

Ile Asp Ala Thr Gly Asp Thr Pro Gly Ala Glu Asp Asp Glu Glu Asp
 100 105 110

Asp Asp Glu Glu Arg Ala Ala Arg Arg Pro Gly Ala Gly Pro Pro Lys
 115 120 125

Ala Glu Ser Gly Gln Glu Pro Ala Ser Arg Gly Gln Gly Gln Ser Gln
 130 135 140

Gly Gln Ser Gln Gly Pro Gly Ser Gly Asp Thr Tyr Arg Pro Lys Arg
 145 150 155 160

Pro Thr Thr Leu Asn Leu Phe Pro Gln Val Pro Arg Ser Gln Asp Thr
 165 170 175

Leu Asn Asn Asn Ser Leu Gly Lys Lys His Ser Trp Gln Asp Arg Val
 180 185 190

Ser Arg Ser Ser Ser Pro Leu Lys Thr Gly Glu Gln Thr Pro Pro His
 195 200 205

Glu His Ile Cys Leu Ser Asp Glu Leu Pro Pro Gln Ser Gly Pro Ala
 210 215 220

Pro Thr Thr Asp Arg Gly Thr Ser Thr Asp Ser Pro Cys Arg Arg Ser
225 230 235 240

Thr Ala Thr Gln Met Ala Pro Pro Gly Gly Pro Pro Ala Ala Pro Pro
245 250 255

Gly Gly Arg Gly His Ser His Arg Asp Arg Ile His Tyr Gln Ala Asp
260 265 270

Val Arg Leu Glu Ala Thr Glu Glu Ile Tyr Leu Thr Pro Val Gln Arg
275 280 285

Pro Pro Asp Ala Ala Glu Pro Thr Ser Ala Phe Leu Pro Pro Thr Glu
290 295 300

Ser Arg Met Ser Val Ser Ser Asp Pro Asp Pro Ala Ala Tyr Pro Ser
305 310 315 320

Thr Ala Gly Arg Pro His Pro Ser Ile Ser Glu Glu Glu Glu Gly Phe
325 330 335

Asp Cys Leu Ser Ser Pro Glu Arg Ala Glu Pro Pro Gly Gly Gly Trp
340 345 350

Arg Gly Ser Leu Gly Glu Pro Pro Pro Pro Arg Ala Ser Leu Ser
355 360 365

Ser Asp Thr Ser Ala Leu Ser Tyr Asp Ser Val Lys Tyr Thr Leu Val
370 375 380

Val Asp Glu His Ala Gln Leu Glu Leu Val Ser Leu Arg Pro Cys Phe
385 390 395 400

Gly Asp Tyr Ser Asp Glu Ser Asp Ser Ala Thr Val Tyr Asp Asn Cys
405 410 415

Ala Ser Val Ser Ser Pro Tyr Glu Ser Ala Ile Gly Glu Glu Tyr Glu
420 425 430

Glu Ala Pro Arg Pro Gln Pro Pro Ala Cys Leu Ser Glu Asp Ser Thr
435 440 445

Pro Asp Glu Pro Asp Val His Phe Ser Lys Lys Phe Leu Asn Val Phe
450 455 460

Met Ser Gly Arg Ser Arg Ser Ser Ser Ala Glu Ser Phe Gly Leu Phe
465 470 475 480

ser Cys Ile Ile Asn Gly Glu Glu Gln Glu Gln Thr His Arg Ala Ile
485 490 495

Phe Arg Phe Val Pro Arg His Glu Asp Glu Leu Glu Leu Glu Val Asp
 500 505 510
 Asp Pro Leu Leu Val Glu Leu Gln Ala Glu Asp Tyr Trp Tyr Glu Ala
 515 520 525
 Tyr Asn Met Arg Thr Gly Ala Arg Gly Val Phe Pro Ala Tyr Tyr Ala
 530 535 540
 Ile Glu Val Thr Lys Glu Pro Glu His Met Ala Ala Leu Ala Lys Asn
 545 550 555 560
 Ser Asp Trp Val Asp Gln Phe Arg Val Lys Phe Leu Gly Ser Val Gln
 565 570 575
 Val Pro Tyr His Lys Gly Asn Asp Val Leu Cys Ala Ala Met Gln Lys
 580 585 590
 Ile Ala Thr Thr Arg Arg Leu Thr Val His Phe Asn Pro Pro Ser Ser
 595 600 605
 Cys Val Leu Glu Ile Ser Val Arg Gly Val Lys Ile Gly Val Lys Ala
 610 615 620
 Asp Asp Ser Gln Glu Ala Lys Gly Asn Lys Cys Ser His Phe Phe Gln
 625 630 635 640
 Leu Lys Asn Ile Ser Phe Cys Gly Tyr His Pro Lys Asn Asn Lys Tyr
 645 650 655
 Phe Gly Phe Ile Thr Lys His Pro Ala Asp His Arg Phe Ala Cys His
 660 665 670
 Val Phe Val Ser Glu Asp Ser Thr Lys Ala Leu Ala Glu Ser Val Gly
 675 680 685
 Arg Ala Phe Gln Gln Phe Tyr Lys Gln Phe Val Glu Tyr Thr Cys Pro
 690 695 700
 Thr Glu Asp Ile Tyr Leu Glu
 705 710

<210> 105
 <211> 2136
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> Beskrivelse av sekvens: nukleinsyresekvens som koder for human IB1-protein

<400> 105

atggcggagc gagaaagcgg cggcctggga gggggggccg cgtccccgcc cgccgcctcc	60
ccgttccttg ggctgcacat cgcttcgcct cccaatttca ggctcaccca tgacatcagc	120
ctggaggagt ttgaggatga agacctctcg gagatcactg atgagtgtgg catcagctta	180
cagtgcaaag acaccctgtc ctacggccc ccgcgcgccg ggctgctctc tgcgggcggc	240
ggcggcgcgg ggagccggtt gcaggccgag atgctgcaga tggacctgat cgacgcgacg	300
ggggacactc ccggggccga ggacgacgag gaggacgacg acgaggagcg cgcggccccg	360
cggccgggag cggggccgcc caaggccgag tccggccagg agccggcgtc ccgcggccag	420
ggccagagcc aaggccagag ccagggcccg ggacgagggg acacgtaccg gcccaagcgg	480
cccaccacgc tcaacctctt tccgcagggt ccgcggctc aggacacact gaataataat	540
tctctgggca aaaagcacag ttggcaggat cgggtgtctc gatcatctc acccctgaag	600
acaggggagc agacaccacc gcatgaacac atctgcctga gcgatgagct gccccccag	660
agcggccccg cccccaccac agatcgaggc acctccaccg acagcccttg ccgcccagc	720
acagccacc agatggcacc tccgggtggt cccctgctg cccgcctgg gggtcggggc	780
cactcgcac gagaccgaat ccaactaccg gccgatgtgc gactagaggc cactgaggag	840
atctacctga cccagtgca gaggccccca gacgctgcag agcccacctc cgccttctg	900
ccgcccactg agagccggat gtcagtcagc tccgatccag accctgccgc ctaccctcc	960
acggcagggc ggccgcacc ctccatcagt gaagaggaag agggcttca ctgcctgtcg	1020
tccccagagc gggctgagcc cccaggcggg ggggtggcgg ggagcctgg ggagccgccg	1080
ccacctccac gggcctctct gagctcggac accagcgcct tgcctatga ctctgtcaag	1140
tacacgctgg tggtagatga gcatgcacag ctggagctgg tgagcctgcg gccgtgcttc	1200
ggagactaca gtgacgagag tgactctgcc accgtctatg acaactgtgc ctccgtctcc	1260
tcgccctatg agtcggccat cggagaggaa tatgaggagg cccgcggcc ccagccccct	1320
gcctgcctct ccgaggactc cacgcctgat gaacccgacg tccatttctc caagaaatc	1380
ctgaacgtct tcatgagtgg ccgctcccgc tctccagtg ctgagtcctt cgggctgttc	1440
tctgcatca tcaacgggga ggagcaggag cagaccacc gggccatatt caggtttgtg	1500
cctcgacacg aagacgaact tgagctggaa gtggatgacc ctctgctagt ggagctccag	1560
gctgaagact actggtacga ggctacaac atgcgcactg gtgccccggg tgtctttcct	1620
gcctattacg ccatcgaggt caccaaggag cccgagcaca tggcagccct ggccaaaaac	1680
agtgactggg tggaccagtt ccgggtgaag ttctgggct cagtccaggt tccctatcac	1740
aagggaatg acgtcctctg tgctgctatg caaaagattg ccaccaccg ccggctcacc	1800
gtgcacttta acccgcctc cagctgtgtc ctggagatca gcgtgcgggg tgtgaagata	1860
ggcgtcaagg ccgatgactc ccaggaggcc aagggaata aatgtagcca cttttccag	1920
ttaaaaaaca tctctttctg cggatatcat ccaaagaaca acaagtactt tgggttcac	1980
accaagcacc ccgcccacca ccggtttgcc tgccacgtct ttgtgtctga agactccacc	2040

aaagcctgg .cagagtccgt ggggagagca ttccagcagt tctacaagca gtttgtggag 2100

tacacctgcc ccacagaaga tatctacctg gagtag 2136